

Aus dem Institut für Hygiene
und Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin

Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. Dieter Hartmann

**ZUR CHEMISCHEN UND PHYSIKALISCHEN
DESINFEKTION VON
VAKZINIAVIRUS-HALTIGEN KANINCHENBORKEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von Klaus-Otto Schümann aus Hamburg

1976



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Hygiene
und Medizinische Mikrobiologie
der Freien Universität Berlin

Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. med. Dieter Hartmann

**ZUR CHEMISCHEN UND PHYSIKALISCHEN
DESINFEKTION VON
VAKZINIAVIRUS-HALTIGEN KANINCHENBORKEN**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin



vorgelegt von Klaus-Otto Schümann aus Hamburg

Referent: Professor Dr. med. Klaus Großrebauer

Korreferent: Privatdozent Dr. med. Herbert Millberger

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fach-
bereiche der Freien Universität Berlin

Promoviert am 23. 9. 1976



Inhaltsverzeichnis

A.	Einleitung	6
I.	Allgemeines über Desinfektionsmittel und -verfahren	6
1.	Begriff der Desinfektion	6
2.	Anforderungen an ein chemisches Desinfektionsmittel	6
3.	Der Viruzidiebegriff	7
4.	Angriffspunkte eines chemischen Desinfektionsmittels	8
5.	Zwei Formen der Anwendung chemischer Desinfektionsmittel	9
a)	Die ständige prophylaktische Desinfektion	9
b)	Die Desinfektion im akuten Seuchenfall	10
II.	Problematik und gegenwärtiger Stand der Prüfung von Virusdesinfektionsmitteln	12
III.	Die praktische Bedeutung der chemischen und physikalischen Desinfektion von Pocken- viren für die Pockenprophylaxe	19
1.	Zur epidemiologischen Situation der Pocken	19
2.	Der Pockenalarmplan	21
a)	Die laufende Desinfektion	24
b)	Die Schlußdesinfektion	26
IV.	Fragestellung	30

B.	Experimenteller Teil	31
I.	Material und Methoden	31
1.	Virusstamm	31
2.	Herstellung und Präparation der Borken	31
3.	Herstellung von Borkenpulver	31
4.	Nachweis der Vakziniaviren	33
5.	Versuche zur Virusreaktivierung bei Kaninchen	34
6.	Durchführung der Desinfektionsversuche	34
	a) Physikalische Desinfektion	34
	b) Chemische Desinfektion	36
7.	Versuche zur quantitativen Erfassung des Virusgehalts desinfizierter Borken	38
II.	Ergebnisse	40
1.	Suspensionsversuche zur Wirksamkeits- prüfung chemischer Desinfektionsmittel	40
	a) Formalin	40
	b) Glutaraldehyd	46
	c) Lysoformin	48
	d) Chloramin T	50
	e) Phenol	51
	f) Amocid	52
	g) Alkohole	53
	h) Killavon	57
2.	Schlusdesinfektionsversuche	60
3.	Händedesinfektionsversuche	63
4.	Desinfektion vakziniavirus-haltiger Ka- ninchenborken durch thermische Inakti- vierung	67

C.	Diskussion	72
D.	Zusammenfassung	80
E.	Schrifttumverzeichnis	83

A. EINLEITUNG

I. Allgemeines über Desinfektionsmittel und -verfahren

1. Begriff der Desinfektion

Desinfektion wird sehr unterschiedlich definiert. Es ist das Verdienst von Reber (29), anlässlich des "2. Internationalen Kolloquium über die Wertbestimmung von Desinfektionsmitteln in Europa" am 8./9.6.1970 in Hamburg, die unterschiedlichen Auslegungen zusammengetragen und kritisch gewürdigt zu haben. Nach Abwägung vieler praktischer und theoretischer Gesichtspunkte wird folgende Definition vorgeschlagen:

"Desinfektion - ist gezielte Eliminierung bestimmter unerwünschter Mikroorganismen mit dem Zweck, deren Übertragung durch Eingriffe in deren Struktur oder Stoffwechsel unabhängig von ihrem Funktionszustand zu verhindern,
oder
- ist gezielte Entkeimung."

Diese Definition hat den Vorteil, exakt den Aufgabenbereich der Desinfektion zu beschreiben; sie hat den Nachteil, zu lang zu sein. Vielerorts wird daher die früher verwendete "Kurzfassung" bevorzugt: "Desinfektion ist die Abtötung pathogener Keime."

2. Anforderungen an ein chemisches Desinfektionsmittel

Zur gezielten Entkeimung werden bestimmte Desinfektionsmittel und -verfahren angewandt. Damit ein chemisches Desinfektionsmittel in der Praxis optimal eingesetzt werden kann, muß es bestimmte Anforderungen erfüllen (s. Tabelle 1).

Tabelle 1

Anforderungen an ein modernes chemisches Desinfektionsmittel (Aus: Großgebauer (11))

Es sollte:

1. ein breites Aktivitätsspektrum gegen Bakterien, Pilze und Viren besitzen,
2. durch unspezifische Proteine (z.B. Serum) nur wenig oder nicht inaktiviert werden (= geringer Eiweißfehler),
3. rasch wirken,
4. biozid wirken und auch nach Wasserspülen nachwirken (Bildung eines biozidalen Films),
5. keine resistenten Erreger induzieren,
6. ein gutes Detergens sein,
7. farblos, geruchlos und atoxisch sein,
8. Haut und Schleimhäute nicht reizen und nicht korrosiv sein,
9. wirtschaftlich sein

Diese hohen Anforderungen werden keineswegs von allen heute zur Verfügung stehenden Mitteln erfüllt.

Es ist wichtig hervorzuheben, daß es kein Universal-desinfektionsmittel gibt, sodaß in der Praxis Mittel Verwendung finden, die nur für ein oder mehrere "Indikationsgebiete" brauchbar sind. Solche einzelnen Indikationsgebiete sind: Chirurgische und Hygienische Händedesinfektion, Flächendesinfektion bei Tuberkulose, bei Pilzerkrankungen und Staphylokokkenhospitalismus, Sputumdesinfektion, Stuhldesinfektion, Urindesinfektion, Desinfektion von Wasch- und Badewasser, von Ess- und Trinkgeschirr und die Instrumentendesinfektion.

3. Der Viruzidiebegriff

Der Begriff der Desinfektion (gezielte Entkeimung) ist auch auf Viren anwendbar, wenngleich die im Ort Ent-

keimung erfolgte sprachliche Zuordnung der Viren zu den "Keimen" bisher ungebräuchlich ist. Zudem spricht man im Falle der Viren meist nicht von Abtötung, sondern von irreversibler Inaktivierung der Vermehrungsfähigkeit. Ein viruzides chemisches Desinfektionsmittel kann nur für diejenigen Anwendungsgebiete empfohlen werden, für die es tatsächlich geprüft wurde. Ein viruzider Effekt von Desinfektionsmitteln liegt nach Großgebauer (13) dann vor, wenn

- a. das Virus in Vor- und Hauptversuchen geprüft wurde, d.h. unter günstigen Bedingungen (z.B. im Suspensionsversuch) und unter praxisnahen Verhältnissen (z.B. unter Zugabe von Serum oder Seife, angeheftet an Instrumente oder andere Flächen)
- b. standardisierte experimentelle Prüfungsmethoden angewandt wurden und ein Reaktivierungstest negativ ausgefallen ist
- c. das Desinfektionsmittel einen großen Inaktivierungseffekt auf das Virus ausübt. (Bei Vorgabe von hohen Virusinfektionstitern muß sich die Infektiosität um mehrere logarithmische Einheiten senken lassen.)

4. Angriffspunkte eines chemischen Desinfektionsmittels

Neben den aufgeführten Anforderungen an chemische Desinfektionsmittel sollten diese in der Praxis einen optimalen Angriffspunkt besitzen. Die effektive Wirkung hängt dabei von folgenden Faktoren ab:

1. von der im Prüftest unter Praxisbedingungen ermittelten Wirkung des Mittels selbst.
2. vom Übertragungsmodus des Erregers. Viren, die vornehmlich durch Tröpfcheninfektion übertragen werden, sind wenig geeignete Objekte für eine chemische Desinfektionsprophylaxe (z.B. Masern, Röteln, Mumps, infektiöse Mononukleose, Schnupfen). Dagegen ist der Ansatzpunkt eines Mittels bei Viren, die durch Schmutz- und Schmierinfektion übertragen werden,

bedeutend günstiger (z.B. Pocken, Virushepatitis).

3. von der Stabilität des Erregers außerhalb des Organismus. Keime, die dort eine hohe Resistenz gegenüber äußeren Einflüssen aufweisen, können in unmittelbarer Nähe ihrer Ausscheidung vernichtet werden.
4. von der ordnungsgemäßen Durchführung der chemischen Desinfektion. Hier müssen u.a. Einwirkungsdauer, Konzentration und Indikationsgebiet streng beachtet werden.
5. von dem aufgestellten Infektionsbekämpfungsprogramm. Generell ist es zweckmäßig, Schwerpunkte ("kritische Stellen") in Krankenhäusern zu benennen und besonders sorgsam zu desinfizieren.

5. Zwei Formen der Anwendung chemischer Desinfektionsmittel

a. Die ständige prophylaktische Desinfektion

Zur ständigen prophylaktischen Desinfektion zählen z.B. die Hygienische und Chirurgische Händedesinfektion, die Desinfektion von Ess- und Trinkgeschirr sowie die Instrumenten- und Wäschedesinfektion. Für nicht behördlich angeordnete Desinfektionen gibt es Mittel, die nach den Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel geprüft und von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie für wirksam befunden wurden. Sie sind in der "Liste der nach den Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel geprüften und von der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie als wirksam befundenen Desinfektionsmittel" (21) aufgeführt. Sie enthält über 140 chemische Desinfektionsmittel. Im Gegensatz zu der unter b. erwähnten Liste des Bundesgesundheitsamtes finden sich hier auch Präparate zur Hygienischen und Chirurgischen Händedesinfektion.

b. Die Desinfektion im akuten Seuchenfall

Für die im akuten Seuchenfall vom Amtsarzt anzuordnende Entseuchung müssen Mittel verwendet werden, die in der "Liste der vom Bundesgesundheitsamt geprüften und anerkannten Desinfektionsmittel und -verfahren" (22) aufgeführt sind. Diese Liste nennt ca. 40 chemische Desinfektionsmittel sowie eine Reihe anderer Desinfektionsverfahren. Die zu desinfizierende Keimart ist im Gegensatz zur Liste der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie nicht aufgeführt. Das führt zu Konzentrationen und Einwirkungsauern, die sich an den resistantesten Keimen orientieren (u.a. Tuberkelbakterien, Staphylokokken). Es wird unterschieden zwischen Mitteln zur Wäsche-, Scheuer- und Ausscheidungsdesinfektion. Präparatenamen sowie die Einwirkungsauer der Mittel und die wirksamen Konzentrationen sind angegeben. Die Art der Wirksamkeitsprüfung ist nicht veröffentlicht worden. Mittel zur Desinfektion der Hände fehlen in der Liste.

Darüber hinaus gibt es eine Liste "Desinfektionsmaßnahmen bei Tuberkulose", herausgegeben vom Deutschen Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose. Sie enthält differenzierte Angaben über Mittel und Verfahren zur chemischen Desinfektion im Falle einer Tuberkulose (z.B. Hände-, Wäsche-, Sputum- und Scheuerdesinfektionsmittel).

Abbildung 1

Zwei Formen der Anwendung chemischer Desinfektionsmittel

ständige prophylaktische Desinfektion

Desinfektion im akuten Seuchenfall

Spektrum der zu bekämpfenden Erreger



u.a. Hände-, Scheuer-, Instrumente-
desinfektion
z.B. Tuberkulose, Pocke-
Virushepati-

Wird dem Amtsarzt ein Infektionsfall gemeldet, so richten sich seine Maßnahmen bezüglich einer anzuordnenden Entseuchung nach dem Bundesseuchengesetz.

§ 39 des Gesetzes lautet:

"(1) Wenn anzunehmen ist, daß Räume, Gegenstände oder menschliche Ausscheidungen mit Erregern meldepflichtiger Übertragbarer Krankheiten behaftet sind, so ist ihre Entseuchung anzuordnen...

(2) Bei nicht meldepflichtigen Übertragbaren Krankheiten kann eine Entseuchung, Entwesung oder Entattung angeordnet werden, wenn diese Krankheiten in epidemischer Form auftreten und nicht nur vereinzelt einen böswilligen Verlauf aufweisen.

(3) Ist die Entseuchung oder Entwesung von Gegenständen nicht ausführbar, so ist ihre Vernichtung anzuordnen..."

Die Indikationen für eine Entseuchung sind also sehr genau festgelegt.

Unter den "Erläuterungen" des Paragraphen heißt es:

"Entseuchung kann durch verschiedene Anwendungen erfolgen.

1. Thermisch durch heißen Wasserdampf (Dampfdesinfektions-Niederdruckapparat), Auskochen, siedendes Wasser, trockene Hitze (Heißluft), Verbrennung.

2. Chemisch (s. Desinfektionsmittel-Liste lt. Bundesgesundheitsamt...)

Hierbei erfolgt die Anwendung entweder als **l a u f e n - d e** Desinfektion während einer Erkrankungsdauer am Krankenbett (Ausscheidungen, Kontaktgegenstände, Pflegepersonal, insbesondere Hände) sowie als **S c h l u ß - d e s i n f e k t i o n** (nach Abschluß der Erkrankung oder Verlegung des Erkrankten) mittels kombinierter Verfahren, z.B. Scheuerdesinfektion (chemisch - mechanisch), Raumdesinfektion mit Formaldehyd (beide Verfahren mit Oberflächenwirkung) sowie thermischer Desinfektion mit

Tiefenwirkung (Betten) mit Scheuer-Desinfektion kombiniert..."

Zu den einzusetzenden Mitteln und Verfahren äußert sich § 41 des Bundesseuchengesetzes:

"Bei den behördlich angeordneten Entseuchungen und Entwesungen dürfen nur Mittel und Verfahren verwendet werden, die vom Bundesgesundheitsamt auf Brauchbarkeit geprüft und in eine von diesem zu veröffentlichende Liste aufgenommen sind..."

II. Problematik und gegenwärtiger Stand der Prüfung von Virusdesinfektionsmitteln

Wie ausgeführt, hat ein Desinfektionsmittel eine definierte Aufgabe; zudem werden an ein solches Mittel besondere Anforderungen gestellt. Nach Prüfung des Präparats kann es in die Liste des Bundesgesundheitsamtes und in die Liste der Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie aufgenommen werden.

Obwohl auf vielen Teilgebieten der Virologie in den letzten beiden Jahrzehnten eine Fülle von bemerkenswerten experimentellen Ergebnissen vorgelegt wurde,, ist das Gebiet der Desinfektion von Viren, verglichen mit dem von Bakterien und Pilzen, relativ wenig bearbeitet und beachtet worden. Für die Bakteriologie und Mykologie hat die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie bereits 1958 einheitliche Prüfungsrichtlinien aufgestellt. In ihnen fehlen Angaben über die Prüfung viruzider Mittel. Bis heute konnten die bisher veröffentlichten Vorschläge noch nicht koordiniert und standardisiert werden.

In der Desinfektionspraxis besteht jedoch in der Human- und Veterinärmedizin ein großes Interesse an der Desinfektion bestimmter Virusarten.

In der Humanmedizin ist man speziell interessiert an der Inaktivierung von Pocken-, Polio-, Hepatitis- und Adenoviren (insbesondere Typ 8, dem Erreger der Keratokonjunktivitis epidemica) sowie an der Inaktivierung des Molluscum contagiosum-Virus (1). In diesen Fällen hat das Desinfektionsmittel einen optimalen Angriffspunkt, d.h., die Viren werden auch indirekt durch Schmutz- und Schmierinfektion übertragen und sind außerhalb des Körpers gegen Umweltfaktoren relativ stabil.

Der Versuch, Prüfungsvorschriften zur Testung viruzider chemischer Desinfektionsmittel zu standardisieren, erweist sich, verglichen mit den Verhältnissen in der Bakteriologie, als erheblich schwerer. Wichtige Virusarten, z.B. die Erreger der Virushepatitis, die offenbar extrazellulär stabil sind, können z.Zt. noch nicht an- und weitergezüchtet werden. Andere, wie z.B. Adenoviren, sind methodisch schwer kultivierbar (s. Tabelle 2). Auch in der Veterinärmedizin besteht seit langem ein großes praktisches Interesse an der Desinfektion vieler tierpathogener Viren. Hier liegt der Schwerpunkt auf dem Gebiet der nüchternen Schadensrechnung durch Abschaltung von Nutztieren. Aus diesen Gründen sind wiederholt Vertreter der Veterinärmedizin mit Vorschlägen zur Vereinheitlichung der Prüfungsvorschriften für Virusdesinfektionsmittel an die Öffentlichkeit getreten (7).

Tabelle 2

Virusspezifische Prüfungsschwierigkeiten bei der
Aufstellung von Kriterien zur Viruzidieprüfung

Anzüchtung von Viren

Unter anderem sind Hepatitisviren und das Virus der
infektiösen Mononukleose noch nicht routinemäßig
kultivierbar. Adenoviren sind methodisch schwer kul-
tivierbar.

Reinigung und Konzentrierung von Viren

Sie ist in der Regel methodisch aufwendig. Virus-
suspensionen enthalten obligatorisch unspezifische
Proteinbeimengungen.

Auswahl der Virusarten

Das Spektrum darf nicht zu groß sein und muß ande-
rerseits die verschieden aufgebauten Virusarten be-
rücksichtigen.

Der Desinfektionsvorgang ist eine Funktion verschiedener
bekannter Größen. Zum Zweck des Desinfektionsmittelver-
gleichs ist es erforderlich, diese Faktoren zu standar-
disieren und in eine Prüfungsvorschrift einzubauen. Ne-
ben virusspezifischen Prüfungsschwierigkeiten (s. Tabelle
gibt es noch eine Reihe von prinzipiellen Unsicherheiten
bei der Standardisierung von Prüfungsrichtlinien (35, 36,
37).

Im folgenden soll der gegenwärtige Stand der Problematik
skizziert werden. Die Tabellen 3 - 5 geben einen Über-
blick über die bisherigen Vorschläge.

Nach McGulloch (24) hat sich Bingel als erster mit der
wissenschaftlichen Prüfungsmethodik von Virusdesinfek-
tionsmitteln beschäftigt (2). Seine Vorschläge sind in
Tabelle 3 enthalten.

Später sind im Ausschuß für die Prüfung chemischer Des-
infektionsmittel (der Deutschen Gesellschaft für Hy-

giene und Mikrobiologie) Bemühungen zur Vereinheitlichung der Viruzidieprüfungen gemacht worden (Schmidt und Großgebauer (32, 33), Großgebauer (10)). Diese Vorschläge enthält Tabelle 4.

Tabelle 3

Standardisierungsvorschläge zur Prüfung von Viruziden (Vorschlag Bingel 1957 (3))

vorgeschlagene Testobjekte	Testsysteme	Bemerkungen
Coxiella burneti	je nach Virus-Art:	zu berücksichtigende Faktoren:
Grippevirus (PR 8 - Stamm)	Bruteitertest	Viruskonzentration
Phagen	Tierversuch	Menge der Beimischungen (Eiweißfehler)
Col. SK-Virus	Gewebekultur	PH
Theiler-Virus		Temperatur
je nach praktischer Erfordernis weitere Virusarten		Einwirkungsdauer
		Suspensions- oder Trägerversuch

Tabelle 4

Standardisierungsvorschläge zur Prüfung von Viruziden
(Vorschlag Schmidt und Großgebauer 1963 (31,32,10))

vorgeschlagene Testobjekte	Testsysteme	Bemerkungen
Das in der Praxis zu desin- fizierende Virus	je nach Virusart:	zu berücksichti- gende Faktoren:
Daneben zum Ver- gleich je einen Vertreter der großen, mittel- großen und klei- nen Viren	Bruteitest	Viruskonzentration
	Tierversuch	Menge der Bei- mischungen (Biweißfehler)
	Gewebekultur	
200 m μ		PH
"Viren" der Psittakosis- Lymphogranuloma- Gruppe		Temperatur
		Einwirkungsdauer
um 100 m μ		Suspensions- oder Trägerversuch
Myxoviren, Mumps und Newcastle- Disease-Viren		zudem:
		Virusinterferenzen
		Virusreaktivierung
um 50 m μ		Anwendung moderner Virusreinigungsver- fahren
Col. S.K.		z.B. DEAE-Zellulose
Theilervirus		Ionenaustauscher

Schließlich bearbeitet auch die Deutsche Veterinärmedi-
zinische Gesellschaft die Aufstellung von Prüfungsricht-
linien für den veterinärmedizinischen und Lebensmittel-
sektor (s. Tabelle 5).

Aus den Tabellen geht hervor, daß prinzipielle Überle-
gungen von den Richtlinien zur Prüfung chemischer Des-
infektionsmittel gegen Bakterien übernommen und für die
Besonderheiten der Virsuarten modifiziert werden mußten.

Obwohl ein einheitliches Prüfungssystem z.Zt. noch nicht vorliegt, wird folgender prinzipieller Prüfungsablauf sichtbar (s. Tabelle 6).

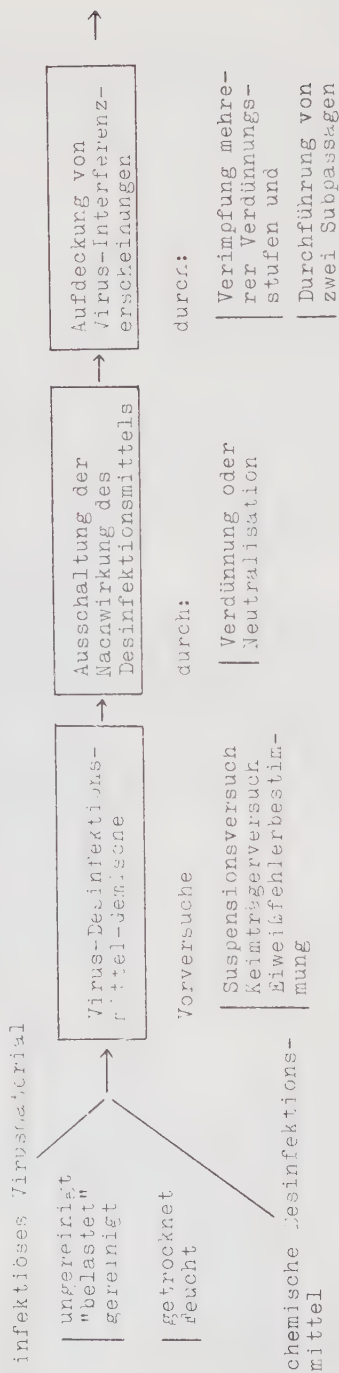
Tabelle 5

Standardisierungsvorschläge zur Prüfung von Viruziden
(Vorschläge der DVG 1972 (7))

vorgesesslagene Testobjekte	Testsysteme	Bemerkungen
ECBO-Virus (=Enteric Cytopathgenic Bovin Orphan) Stamm ICR NDV (Newcastle- Disease-Virus) Stamm California Mäusepocken- (Ektromelie-) Virus	Zellkultur Allantois- höhle 11 Tage alter Hühner- eier Mäusefibro- blasten-Kultur	in der Vorprüfung: a. Feststellung des pH-Wertes b. Prüfung der Toxi- zität des Mittels im jeweiligen Testsystem c. Prüfung des viru- ziden Effekts im Suspensionsver- such mit und ohne Eiweißbelastung in der Hauptprüfung: Bestimmung der viru- ziden Wirkung auf Keimträgern a. Verbandmull b. Hühnereischale c. Holz jeweils nur mit Eiweiß

Tabelle 6 (aus: Schmidt und Großgebauer (31))

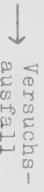
Prinzipieller Gang einer Desinfektionsmittelpriifung auf Viruzidie



Unsichtbarer Vorgang der Virusinaktivierung



Verimpfung auf
geeignete Nähr-
böden



Hühnererei
Gewebekultur
Versuchstier



Viruskontrolle:

$ID_{50} = x$

Virus-Desinfek-
tionsgemische:

$ID_{50} = x$

: Desinfektions-
mittel war un-
wirksam

$ID_{50} = \ll x$

: Desinfektions-
mittel war
wirksam

III. Die praktische Bedeutung der chemischen und physikalischen Desinfektion von Pockenviren für die Pockenprophylaxe

1. Zur epidemiologischen Situation der Pocken

Es gibt keine spezifische Therapie der Pocken; prophylaktische Maßnahmen bieten die einzige Aussicht auf eine wirkungsvolle Bekämpfung. Für das Pockenvirus ist der Mensch der einzige natürliche Wirt; es gibt kein anderes Reservoir in der Natur. Das öffnet die Möglichkeit, die Pocken durch ein systematisches, weltweites Bekämpfungsprogramm auszurotten. Die WHO begann 1965 ein solches Programm, und die Erfolge scheinen diese Überlegung zu rechtfertigen. 1965 gab es weltweit 112 000 Pockenerkrankungen, 1970 noch 30 000, 1974 stieg die Zahl durch eine Epidemie in Nordindien und Bangla Desch wieder auf 200 000 Fälle an. Diese hohe Zahl wird zum Teil der stark verbesserten Fall-erfassung zugeschrieben. Später zeigte sich ein starker Rückgang, sogar zum Winter hin, der in diesen Breiten üblicherweise als "Pockensaison" angesehen wird (33)

Aufgeschlüsselt nach geographischer Verbreitung sieht man, daß die Pocken vor Beginn des WHO-Programms 1965 noch in 30 Ländern Südamerikas, Indonesiens, Afrikas und Asiens endemisch waren und bis heute in nur zwei Regionen zurückgedrängt werden konnten: nach Nord-Ost-Indien, Bangla Desch und in ein abgelegenes Gebiet Äthiopiens (33).

Der Schlüssel dieses Erfolges ist eine systematische Erfassung der Herdgebiete und ihre Abriegelung durch Unterbrechung der Infektionskette. Maßnahmen dazu sind die Durchimpfung der Bevölkerung dieser Gebiete und die strenge Isolierung der Erkrankten, wobei den Isolierungsmaßnahmen eine wichtige Funktion zukommt. Im Bundesgesundheitsblatt heißt es hierzu (19):

"In verschiedenen Ländern wurde die Pockenübertragung nach weniger als einem Jahr seit Beginn solcher Überwachungsprogramme gestoppt, obwohl keineswegs alle Bürger geimpft worden waren. In anderen Ländern, wo allein Massenimpfungen durchgeführt wurden (ohne adäquate Überwachung und Abriegelung), persistierten die Pocken."

Diese hohe Bedeutung maß Bingel (3) bereits 1966 den Isolierungsmaßnahmen zu:

"Die wichtigsten Maßnahmen gegen die Verbreitung der Pocken sind immer noch solche der Expositionsprophylaxe, d.h. Abschirmung der Ausscheidungsquelle... und die Vernichtung der Erreger in unmittelbarer Nähe ihrer Ausscheidung durch geeignete Desinfektion."

Diesem weltweiten Rückgang der Pocken steht das erhöhte Einschleppungsrisiko gegenüber, das der moderne Ferntourismus mit sich bringt (z.B. Jugoslawien 1972).

Erwähnt sei weiter eine bleibende Bedrohung durch Pockenviren, die in Laboratorien gezüchtet werden und ein künstliches Reservoir bilden. Der Pockenausbruch 1953 in London geht auf eine solche Laboratoriumsinfektion zurück und forderte zwei Menschenleben (34).

Schließlich ist zu bemerken, daß in der Bundesrepublik Deutschland seit Anfang 1975 die Pockenerstimpfung als Pflichtimpfung ausgesetzt wurde. Die Folgen dieser Maßnahme sind weitgehend offen, und die Einführung der Neuerung ist durchaus strittig.

Diese Ausführungen zeigen zweierlei:

1. Die Überwachung und Abriegelung von Pockenkranken spielen eine Schlüsselrolle in der Pockenbekämpfung. Desinfektionsmaßnahmen als laufende und als Schlusdesinfektion sind dabei unabdingbar.
2. Der erfreuliche Rückgang der Pocken in den letzten zehn Jahren kann die Gesundheitsdienste der pocken-

freien Ländern nicht entbinden, das Einschleppungsrisiko immer neu abzuschätzen und prophylaktisch Schutzmaßnahmen zu treffen.

Ob es gelingt, die Pocken ganz auszurotten, wird erst die Zukunft zeigen.

2. Der Pockenalarmplan

Schutzmaßnahmen gegen Pocken finden sich in der Bundesrepublik Deutschland u.a. im Pockenalarmplan (27). Nach diesem Plan spielt neben der Isolierung der Patienten und der aktiven und passiven Immunisierung der Bevölkerung die Desinfektionsprophylaxe eine erhebliche Rolle bei der Unterbrechung der Infektionskette.

Prinzipiell muß man eine laufende Desinfektion und eine Schlußdesinfektion unterscheiden (s. Abbildung 2). Beginn und Dauer der Desinfektionsmaßnahmen richten sich nach den Eigenarten und der Pathogenese dieser Erkrankung (s. Abbildung 3). Wesentlich dabei ist die Überlegung, daß ein Pockenkranker während der Inkubationszeit sowohl asymptomatisch als auch nicht infektiös ist. Er ist kontagiös vom Beginn der katharalischen Erscheinungen bis zum Abfall aller Borken. In diesem langen Zeitraum müssen die entsprechenden Desinfektionsmaßnahmen durchgeführt werden.

A.C. Mitra (26) konnte zeigen, daß der Virusgehalt der Borken und damit deren Infektiosität von einer vorangegangenen Impfung nicht beeinflußt werden.

Abbildung 2
(modifiziert nach Kanz (17a))

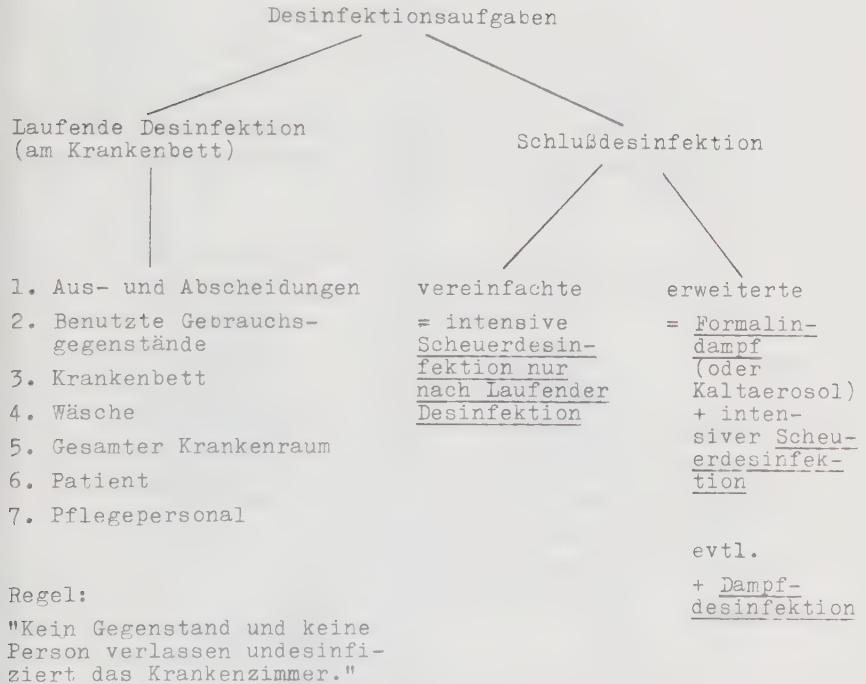


Abbildung 3

Pathogenetische Vorstellungen zur Pockenerkrankung

Inkubationszeit: 12 Tage	Prodromal-Stadium: 3 Tage	Eruptionen: 8 Tage Papeln, Vesikeln, Pusteln 3. - 5. Tag	Borken: 5 Wochen
Asymptomatisch nicht kontagiös			
Zeitspanne der Kontagiosität und damit der Desinfektionsmaßnahmen			
	hochinfektiös be- sonders im Sta- dium der Pharyngitis (Tröpfcheninfektion)		
		Möglichkeit der Kontamination von Gegenständen (auch Textilien und Händen)	speziell im Rahmen der Schluß- desinfektion (einschließlich Scheuerdesinfektion) zu desin- fizieren

a) Die laufende Desinfektion

Im Rahmen der laufenden Desinfektion wird im Pockenalarmplan (27) sowie im Merkblatt Nr. 18, "Pocken, Verhütung und Bekämpfung" (25), u.a. folgendes empfohlen:

1. Wäschedesinfektion

- Formaldehydlösung DAB7, 1,5 %ig für 12 Stunden
- Desinfektionsmittel auf Formaldehydbasis mit Seifenlösung oder Netzmittel, die in der Desinfektionsmittelliste des Bundesgesundheitsamtes für die Wäschedesinfektion zugelassen sind
- gleichfalls für die Wäschedesinfektion zugelassene phenolische Desinfektionsmittel, die besonders viruzid sind.

2. Gegenstände des persönlichen Bedarfs

- Die vom Pockenkranken ... benutzten Gegenstände des persönlichen Bedarfs sind zweckmäßigerweise an Ort und Stelle mit chemischen Desinfektionsmitteln (Gevisol, Bac) zu entseuchen, soweit wie möglich und angebracht zu verbrennen oder 15 Minuten in 0,5 %iger Sodalösung abzukochen.

3. Geschirr und ähnliche Gebrauchsgegenstände

- Die Entseuchung soll durch Abkochen in 0,5 %iger Sodalösung für 15 Minuten oder durch Einlegen in eine 3 %ige Formaldehydlösung DAB 7 für die Dauer von 4 Stunden erfolgen.

4. Die Händedesinfektion

- In der Liste des Bundesgesundheitsamtes sind Mittel für das Anwendungsgebiet der Hygienischen und Chirurgischen Händedesinfektion nicht aufgeführt. In der Bundesrepublik Deutschland hat die Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie eine Liste herausgegeben, in der u.a. ge-

prüfte Mittel für die Hygienische und Chirurgische Händedesinfektion empfohlen werden. Allerdings finden sich auch hier keine chemischen Viruzide, da z.Zt. keine genormten Prüfungsvorschriften vorliegen (s. oben).

Angaben über die Händedesinfektion bei Pocken finden sich in den Merkblättern des Bundesgesundheitsamtes (25) und in einer Arbeit von Heicken (15). Es werden die Verwendung von Äthyl- und N-Propylalkohol in Konzentrationen von 70 % bzw. 80 % empfohlen. Die Einwirkungsdauer wird mit 2 Minuten (25) bzw. 3 Minuten (15) angegeben. Bingel und Hermann (3) halten diese Zeiten für "an der Grenze des Vertretbaren"liegend. Sie kommen aufgrund von Suspensionsversuchen mit Vakzineviren zu dem Ergebnis, daß eine Verdoppelung der Einwirkungsdauer zur Sicherung erforderlich ist. Diese Autoren halten den doch erheblichen Zeitaufwand für nötig, "in Anbetracht der Seltenheit und Gefährlichkeit von Pockeninfektionen."

Aus Selbstversuchen von Großgebauer (14) an künstlich mit Vakzineviren kontaminierten Händen geht hervor, daß eine sichere Händedesinfektion bei Pocken erst nach 5 Minuten Einwirkungsdauer von 80 %igem Äthyl- bzw. 60 %igem N-Propylalkohol (=Chirurgische Händedesinfektion) eintritt.

Als Faustregel gilt folgendes:

Bei extrem stark kontaminierten Händen, z.B. bei einer Kontamination der Hände im bakteriologischen Laboratorium, und nach einer Kontamination mit Pockenviren, Hepatitisviren oder Tuberkelbakterien, sollte 5 Minuten mit 80 %igem Äthyl-, 70 %igem Isopropyl- oder 60 %igem N-propylalkohol desinfiziert werden (=Chirurgische Händedesinfektion).

Eine Wiederholung des Vorgangs kann angezeigt sein.

b) Die Schlußdesinfektion

Bezüglich der Schlußdesinfektion bei Pocken wird im Pockenalarmplan (27) u.a. folgendes Vorgehen empfohlen:

Unverzüglich nach dem Abtransport des Pockenkranken oder Krankheitsverdächtigen und der ansteckungsverdächtigen Personen oder dem Abtransport einer Pockenleiche ist eine Schlußdesinfektion in der Wohnung durchzuführen. Die Raumdesinfektion soll mit dem Formaldehyd-Wasserdampfverfahren nach Flügge oder besser einem Formaldehyd-Wasservernebelungsverfahren durchgeführt werden. Die Formaldehydkonzentration soll in beiden Fällen 5 g Formaldehydgas pro Kubikmeter Raum betragen; das Desinfektionsmittel soll mindestens 6 Stunden einwirken. Es kann hiernach durch Lüften aus dem Raum entfernt werden oder durch nachfolgende Amoniakverdampfung neutralisiert werden. Für die Formaldehydvernebelung ist es zweckmäßig, die errechnete Menge von Formaldehydlösung DAB 7 gemischt zu gleichen Teilen mit vergälltem Alkohol und Wasser in einem geeigneten maschinellen Vernebelungsgerät zu vernebeln.

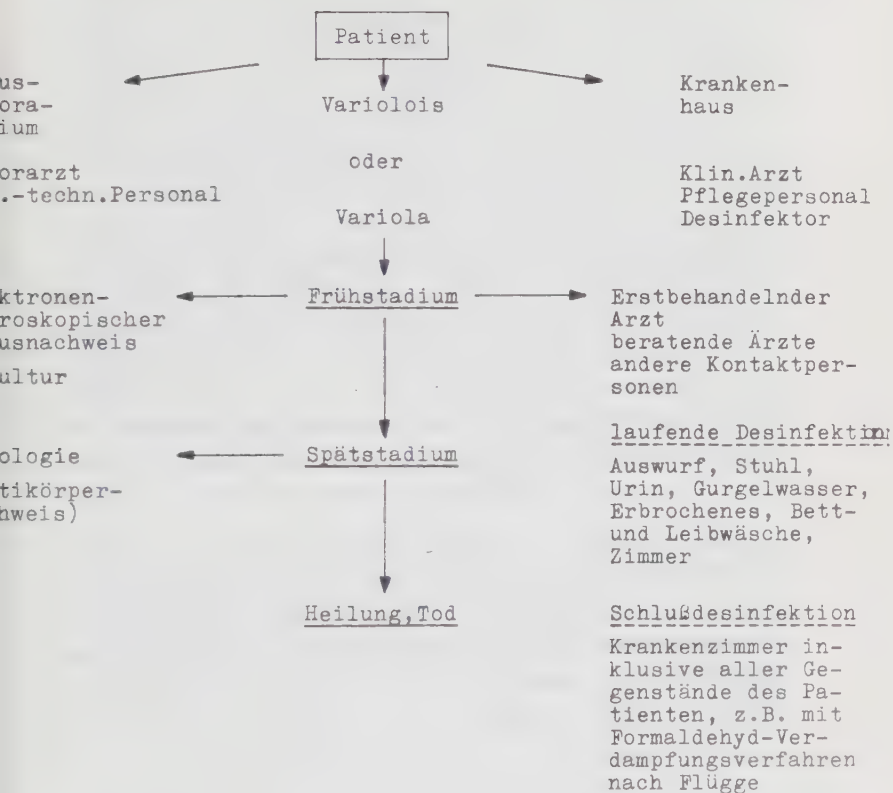
An die Raumdesinfektion durch Vernebelung oder Vergasung von Formaldehydlösung ist eine Scheuerdesinfektion des Bettes, seiner Umgebung und eventuell anderer stark verschmutzter Gegenstände mit einem formaldehydhaltigen Desinfektionsmittel in der in der gültigen Desinfektionsmittelliste für Scheuerdesinfektion angegebenen Konzentration anzuschließen. Falls aus technischen Gründen erforderlich, können auch zugelassene Chloraminpräparate oder für die Virusdesinfektion besonders geeignete phenolische Desinfektionsmittel (wie Gevisol oder Bac) verwendet werden.

Der Pockenalarmplan sieht für die Schlußdesinfektion noch eine weitere, epidemiologisch äußerst

wichtige Anwendung vor: die Desinfektion der Krankenwagen. Da der Krankenwagen bei den Isolierungsmaßnahmen eine Schlüsselrolle einnimmt und mit ihm in kürzester Zeit viele Kranke, aber auch viele nur verdächtige Personen in Berührung kommen, ist die Desinfektion im Pockenalarmfall hier von großer Tragweite. Im Pockenalarmplan heißt es:

"Die Desinfektion von Krankenwagen...ist möglichst in dichtschießenden, heizbaren Garagen durchzuführen. Die Wagen werden mit Formaldehyd-Wasserdampf oder Vernebelung von Formaldehydlösung wie bei der Raumdesinfektion entseucht...Dieser Raumdesinfektion ist dann eine Scheuerdesinfektion des Innenraums, insbesondere der häufigsten Kontaktstellen, mit 3 %iger Formalinlösung oder 5 %iger Lysoformlösung mit sechsständiger Einwirkungsdauer anzuschließen."

ema zum Einsatz chemischer Desinfektionsmittel bei Pocken- usinfektionen



Erläuterungen zum Schema:

Der Pockenverdächtige trifft im Frühstadium auf sogenannte Kontaktpersonen (Familienmitglieder, Freunde, Flughafenpersonal, erstbehandelnder Arzt, zur diagnostischen Beratung zugezogener Arzt). Bestätigt sich der Pockenverdacht, so wird der Betreffende auf einer Pockenstation isoliert. Dort setzt die Betreuung durch klinische Ärzte und das übrige Pflegepersonal ein. Zur ätiologischen Klärung wird sofort z.B. Rachenspülflüssigkeit und Pustelmaterial gewonnen und in das Viruslaboratorium geschickt. Mit Hilfe des Elektronenmikroskops ist eine Schnelldiagnostik (innerhalb von ca. 2 Stunden) möglich. Gleichzeitig wird im Brutei (Beimpfung der Chorioallantoismembran 11 Tage vorbebrüteter Hühnereier) und in der Gewebekultur die Virusanzüchtung versucht, deren Ergebnis jedoch erst 2 bis 3 Tage später abgelesen werden kann.

Entscheidend ist, daß bereits während der vorbeugenden Isolierung des Pockenverdächtigen im Krankenhaus und während der Virusdarstellungs- und anzüchtungsversuche im Viruslaboratorium prophylaktische Desinfektionsmaßnahmen (Händedesinfektion und laufende Desinfektion) ergriffen werden müssen.

IV. Fragestellung

Zum Studium der Brauchbarkeit chemischer Desinfektionsmittel zur Inaktivierung von Pockenviren (Variola major-Virus) dient im allgemeinen als Modell das Vakziniavirus, d.h. das Pockenimpfvirus, da es für den Experimentator ungefährlich ist und etwa die gleiche Desinfektionsmittelresistenz wie das Variola major-Virus besitzen dürfte. Bisher sind nur wenige Desinfektionsversuche mit Pockenborken durchgeführt worden (5, 8, 18, 26, 28). Dieses Modell stellt an chemische Desinfektionsmittel besonders hohe Anforderungen, muß jedoch im aktuellen Krankheitsfall sicher desinfiziert werden.

Im folgenden werden vakziniavirus-haltige Kaninchenborken physikalisch und chemisch behandelt. Im einzelnen wurden sie

1. in vitro ohne Flüssigkeit bzw. in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und erhitzt.
2. in ein klinisch routinemäßig verwendetes Desinfektionsgerät (Vacudes 4000) eingelegt.
3. im Suspensionsversuch⁺⁾ einer Desinfektion mit chemischen Desinfektionsmitteln unterworfen.
4. in Krankenzimmern ausgelegt, die einer Schlußdesinfektion mit verdampftem Formalin unterzogen wurden.

Die Versuche dienen dem Ziel, weitere Informationen über die Resistenz von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken gegenüber Desinfektionsmitteln und -verfahren zu erhalten und damit die Desinfektionsmaßnahmen im Falle von Pocken sicherer zu machen.

⁺⁾ im physikalischen Sinne keine echte Suspension

B. EXPERIMENTELLER TEIL

I. Material und Methoden

1. Virusstamm

Zur Infektion der Kaninchen wurde der Vakzinevirusstamm "Berlin" verwendet. Das originäre Ausgangsmaterial war Kälberrohstoff. Virusgehalt: 10^7 - 10^8 PFU/ml, geprüft im Bruteitest. Vor den Händedesinfektionsversuchen wurde nach Reed und Munch (30) die ID 50 der Lymphe bestimmt.

2. Herstellung und Präparation der Borken

Zur Herstellung der Borken verwendeten wir 2 - 3 kg schwere Kaninchen. Je Tier wurde ein Feld von ca. 8 - 10 cm Bauchhaut flächenhaft skarifiziert und mit dem Kälberimpfstoff (1 : 20 in physiologischer Kochsalzlösung verdünnt) infiziert. Nach 8 - 10 Tagen wurden die Tiere entblutet und die vakziniavirus-haltigen Borken geerntet. Aufbewahrung der Borken bei $+4^{\circ}\text{C}$. Sie wurden in Stückchen von ca. 0,1 - 0,6 cm Länge und 0,1 - 0,2 mm Dicke geschnitten und in Kontroll- und Versuchsorken aufgeteilt. Zu jedem Desinfektionsversuch wurden wenigstens 3 Borken genommen, die in der Regel von verschiedenen Tieren stammten.

Nach der Desinfektion wurden die Versuchs- und Kontrollorken fein zerschnitten, in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert und unter Zusatz von Penizillin und Streptomycin auf die Bruteier verimpft.

3. Herstellung von Borkenpulver

Borkenstückchen wurden abgewogen und im Exsikkator 20 Minuten getrocknet. Danach wurden sie zur Bestimmung des Trockengewichts nochmals gewogen und mit 3 ml Äther versetzt. Nach 30 Minuten wurde der Äther durch Verdunsten entfernt, die Borken zum zweitenmal im Exsikka-

tor getrocknet (10 Minuten) und schließlich im Mörser zerrieben. Zu den pulverisierten Borkenstückchen wurde die zehnfache Menge einer 9 %igen Kochsalzlösung gegeben (z.B. 0,1 ml zu je 0,01 g Borkenpulver). Der Ansatz wurde bei Raumtemperatur geschüttelt und 90 bis 120 Minuten stehengelassen. Der Suspension wurde Aqua bidestilata im Verhältnis 1 : 10 zugegeben (z.B. 0,9 ml Wasser zu je 0,1 ml 9 %iger Kochsalzlösung), sodaß sich eine hundertfache Verdünnung der Borken in physiologischer Kochsalzlösung ergab. Nach gründlichem Durchschütteln wurden einzelne Ansätze abgeteilt und in bestimmten Verdünnungen verimpft.

Die sich ergebenden "Plaques" wurden ausgezählt. Nach Berücksichtigung des Verdünnungsfaktors ergab sich der Virusgehalt der Ausgangborke. In einigen Versuchen wurde auf diese Weise der Virusgehalt feinzerschnittener Borken mit dem von pulverisierten Borken quantitativ verglichen.

Die Berechnung der plaquebildenden Einheiten (PBE) soll an dem folgenden Beispiel summarisch erläutert werden:

Abwiegen von 10 mg Borkenmaterial

✓

Zerschneiden der Borken zu feinen Stückchen

✓

Aufnahme in 1 ml physiologische Kochsalzlösung

✓

Titration mit dem Faktor 2

✓

Vollständige Verimpfung des Materials
einzelner Verdünnungsstufen

✓

Bebrütung und quantitative Erfassung der
gebildeten Plaques (PBE)

Berechnungsbeispiel:

Verdünnungsstufe 1 : 32 = 72 PBE

" 1 : 64 = 56 PBE

Nach Berücksichtigung der Verdünnungsstufe ergibt sich daher pro ml Ansatz bei

1 : 32 = 2 304 PBE

1 : 64 = 3 584 PBE

Daraus ergibt sich pro mg Borke ein Virusgehalt von 350 PBE. Dieser Virusgehalt liegt nur wenig unter den Werten, die unter Verwendung menschlicher Pockenborken ermittelt wurden (26).

4. Nachweis der Vakziniaviren

Saubere frische Eier von Leghornhühnern wurden bei 37 - 37,5° C in horizontaler Lage bei einer Luftfeuchtigkeit von ca. 60 % 11 Tage vorbebrütet (Abbildung 5). Über einem Durchleuchtungskasten (Abbildung 6) wurden sie danach durchleuchtet. Nichtbefruchtete und abgestorbene Eier wurden ausgesondert.

Beimpfungstechnik der Chorioallantoismembran:

Zunächst wurden nach Desinfektion eines Eibezirkles mit 80 vol. %igem Äthylalkohol ein "Fenster" von ca. 2 x 1 cm ausgeschnitten und die darunterliegende Kalkhaut vorsichtig abgezogen. Auf die unverletzte freigelegte Chorioallantoismembran wurde das Virusmaterial getropft. Die Impfstelle wurde mit einem Zellophanklebestreifen verschlossen. Die Ablesung erfolgte nach dreitägiger Bebrütung bei 37,8° C unter Zuhilfenahme einer Lupe.

Im positiven Falle (gelungener Virusanzüchtungsversuch) bildeten sich ca. 1 - 3 mm große, rundliche, weiße Erhebungen ("plaques", "pocks", s. Abbildung 7, 8), die mit dem bloßen Auge oder mit einer einfachen Lupe ausgezählt werden konnten. Diagnostische Schwierigkeiten



Abbildung 5
Brutschrank



Abbildung 6
Durchleuchtungsbox

Abbildung 7

Freipreparierte
Chorioallantoismem-
bran eines Hühner-
embryos mit
"plaques".

(Gelungene An-
züchtung des
Vakziniavirus)



Abbildung 8

Ausschnitt

ergaben sich, wenn sich das Virus sekundär hämatogen verbreitete und dann zusätzlich kleine Herde hervorrief. Auch Verunreinigungen mit Bakterien (oft Staphylokokken) sowie Desinfektionsmittelreste konnten auf der Chorioallantoismembran zur Ausbildung kleiner pockenähnlicher Herde führen.

Aus diesem Grunde wurden regelmäßig Subkulturen auf der Chorioallantoismembran, bakterielle Subkulturen und in Zweifelsfällen Tierversuche (s. 5.) ausgeführt.

5. Versuche zur Virusreaktivierung bei Kaninchen

Desinfizierte, zerschnittene Kaninchenborken und unbehandelte Kontrollen wurden intradermal an Kaninchen verabreicht. Hierzu wurden 2 - 3 kg schweren Albinos 3 - 5 intrakutane Quaddeln auf die frisch skarifizierte Bauchhaut gesetzt. Damit sollten mögliche unspezifische Ausfälle in den Testsystemen erkannt und teilgeschädigte Viren eventuell reaktiviert werden.

6. Durchführung der Desinfektionsversuche

a. Physikalische Desinfektion

Desinfektion von Borkenstückchen in vitro

Je 3 Borkenstückchen wurden in Reagenzgläsern ohne Flüssigkeit bzw. in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, eine Stunde bei 70 bzw. 90° C belassen. Zum Schutz gegen die Wasserdampfentwicklung wurden die Röhrchen mit einem Gummistopfen verschlossen. Die Thermoregulation erfolgte im Wasserbad mit einem Gerät der Firma Köttermann, Hänigsen, BRD.

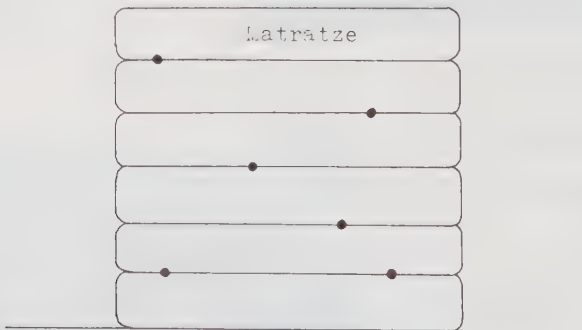
Inaktivierung von Borkenstückchen im Desinfektionsapparat

In einen mit Matratzen voll gefüllten, funktionstüchtigen Desinfektionsapparat (Vacudes 4000, Firma Hartmann, Berlin-West), der im klinischen Betrieb Verwendung findet, wurden an ungünstigen Stellen

(s. Abbildung 9) Borkenstückchen eingelegt, welche selbst in Fließpapierbriefchen verpackt waren. Nach Ablauf des gewählten Desinfektionsprogrammes entnahmen wir die Borkenstückchen zur Verarbeitung (s. unter "Nachweis der Vakziniaviren"). Die Inaktivierungsversuche wurden bei den Betriebsdampf-
stößen 3 und 4 durchgeführt, d.h. bei einer drei- bzw. vierfachen Wiederholung des Evakuierungs- und Dampfbeschickungsvorganges. Die Inaktivierungstemperaturen lagen bei 75 und 105° C.

Abbildung 9

Schematische Darstellung der Einlegungsorte von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken zwischen den Matratzen im Vacudes 4000



Erläuterung: Die Borkenstückchen wurden in Briefchen (Fließpapier) eingewickelt und auch an den für den Dampf besonders schwer zugänglichen Bezirken eingelegt.

● = Kaninchenborke

b. Chemische Desinfektion

Verschiedene chemische Desinfektionsmittel wurden im Suspensionsversuch bezüglich ihrer Wirkung auf vakziniavirus-haltige Borken geprüft. Je 3 Borkenstückchen wurden mit dem Desinfektionsmittel übergossen und anhaftende Luftblasen unter Rühren entfernt. Nach verschiedener Einwirkungsdauer entnahmen wir die Borken und trockneten sie vor der Verarbeitung 5 Minuten auf Filterpapier. Falls erforderlich, wurden die Desinfektionsmittel nach den Angaben der "Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel" (6) entnommen.

Verwendete Desinfektionsmittel:

<u>Aldehyde:</u>	Glutaraldehyd 2 %ig	(Fa. Johnson u. Johnson, Norderstedt, BRD)
	Formaldehyd	(Formaldehyd solutus DAB 7 ⁺) -37 Gew. %- Fa. Merck, Darmstadt, BRD)
	Lysoformin	(Fa. Lysoform, Berlin-West)
<u>Alkohole:</u>	Äthylalkohol 80 %ig	(Fa. Merck, Darmstadt, BRD)
	Isopropylalkohol 70 %ig	(Fa. Texaco, Hamburg, BRD)
	N-propylalkohol 60 %ig	(Fa. Texaco, Hamburg, BRD)
	Angaben in vol. %	
<u>Phenole:</u>	Phenol, pro analysis	(Fa. Merck, Darmstadt, BRD)
	Amocid	(Fa. Lysoform, Berlin-West)

⁺ Fußnote: Formaldehyd solutus DAB 7 ist eine wässrige, 35,0 bis 37,0 % Formaldehyd enthaltende Lösung, die auch unter der Bezeichnung Formalin im Handel ist. Zur Herstellung z.B. einer 3 %igen Lösung von Formaldehyd solutus DAB 7 sind 30 ml dieser Lösung mit Wasser auf 1000 ml aufzufüllen. Die verwendete 1 %ige bzw. 0,5 %ige Formaldehydlösung entspricht also ungefähr einer 3 %igen bzw. 1,5 %igen Lösung von Formaldehyd solutus DAB 7. Wir führten Versuche mit 0,5, 1 und 2 %iger Formaldehydlösung durch.

Quartäre Amoniumverbindungen: Killavon 10 %ig
(Fa. Lysoform, Berlin-West)

Halogenverbindungen: Chloramin T
(Fa. Merck, Darmstadt, BRD)

Verwendete Enthemmungsmittel:

(nach Angaben der "Richtlinien zur Prüfung chemischer Desinfektionsmittel")

Formalinpräparat: 2 %ige Na_2SO_3 - Lösung

QuartäreAmonium-Verbindungen: 0,5 %ige Kalischmier-
seifenlösung

Phenolverbindungen: 1 %ige Tween 80 - Lösung

Halogenverbindungen: 1 %ige Na_2SO_3 - Lösung

c. Raumesinfektion mit Formaldehyddampf

Ablauf und Technik entsprechen den Angaben von Großgebauer und Mitarbeitern (12). Die Borkenstückchen wurden in einem Krankenzimmer, das 2 Betten, 2 Stühle und einen Nachttisch enthielt, direkt auf Glas gelegt. Zur Schlußdesinfektion stand ein Autex-Gerät der Fa. Dr. Gruß KG (Neuß, BRD) zur Verfügung. Einwirkungsdauer des Formaldehyds: 6 bzw. 24 Stunden. Formaldehydmenge: 5 bzw. 10 g Formaldehyd (entsprechend 15 - 16 bzw. 30 - 36 ml Formaldehyd solutus DAB7) pro Kubikmeter Raum. Nach Ablauf der Desinfektionsdauer entnahm ein Desinfektor die Testobjekte und las das Hygrometer ab. Erst dann erfolgte die Neutralisation des Formaldehyds mittels Ammoniak.

d. Händedesinfektionsversuche

Einer Versuchsperson (Selbstversuche) wurde je 0,1 ml Stammlymphe (s. unter 1. "Material und Methoden") auf die Daumen- und Zeigefingerkuppe der mit Alkohol desinfizierten Hand gebracht. Durch gegenseitiges Reiben der Fingerkuppen wurde das Material gleichmäßig verteilt und

5 Minuten an der Luft getrocknet. Die mit Vakziniaviren kontaminierten Fingerkuppen wurden unter Ausführung von Waschgewegungen in 300 ml der Desinfektionsmittellösung getaucht und 1, 2, 3 oder 5 Minuten darin belassen. Anschließend wurden die Fingerkuppen in 10 ml einer phosphatgepufferten isotonischen Kochsalzlösung (pH 7,3) ausgeknetet. Zur Vermeidung bakterieller Kontamination enthielt diese 100 I.E. Penizillin und 10 Gamma Streptomycin. Danach ist die Knotflüssigkeit auf die Chorioallantoismembran 11 Tage vorbebrüteter Eier gebracht worden.

Die Händedesinfektionsversuche wurden mit 1,5 %iger Chloramin T - Lösung bzw. 70 vol. %igem Isopropylalkohol durchgeführt.

7. Versuche zur quantitativen Erfassung des Virusgehalts desinfizierter Borken

Als quantitatives Maß für den Desinfektionserfolg diente ein Vergleich des Virusgehalts der desinfizierten Borken mit dem der Kontrollborken. Eine bestimmte, gleiche Gewichtsmenge der Kontroll- und Versuchsborken wurde, wie angegeben, fein zerschnitten, mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt und mit dem Faktor 2 titriert. Die einzelnen Verdünnungsstufen wurden auf die Chorioallantoismembran von Bruteiern gebracht. Die Ablesung erfolgte nach dreitägiger Bebrütung bei 37,5° C. Die sich nach Verimpfung der beiden Ansätze bildenden Vakziniavirusherde wurden ausgezählt und die Zahlen aus beiden Gruppen miteinander verglichen. Einen schematischen Überblick über die Versuchsabläufe zeigt die Abbildung 10.

Insgesamt kamen 25 Kaninchen und 2.365 Eier in die Versuche.

Abbildung 1c

Allgemeiner Versuchsaufbau

Desinfektion der Vakziniavirus-haltigen Kaninchentorke

Thermisch >

70° C	Einwirkungs-dauer
90° C	1 Stunde

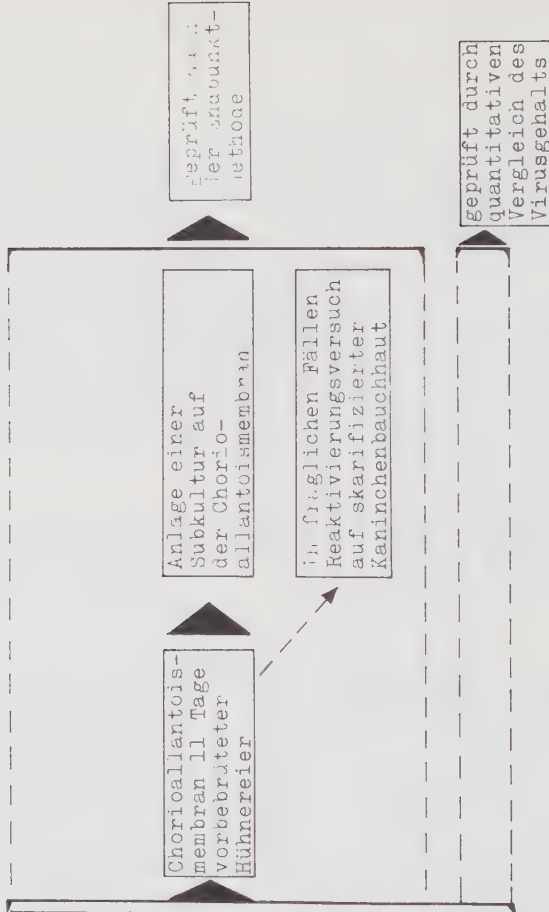
Desinfektionsapparat
"Vacudes 4000"

chemisch >

Desinfektionsmittel
unterschiedlicher
Wirkungstypen

Händedesinfektion
mit 2 verschiedenen
chemischen Desinfek-
tionsmitteln

Raumdesinfektion
mit Formaldehyd



I. Ergebnisse

1. Suspensionsversuche zur Wirksamkeitsprüfung chemischer Desinfektionsmittel

Sämtliche Desinfektionsmittellösungen bzw. -verdünnungen wurden erst kurz vor Versuchsbeginn angesetzt.

a. Formalin

Die Ergebnisse mit 0,5, 1 bzw. 2 %igem Formaldehyd sind in den Tabellen 7 - 9 enthalten. Es ist ersichtlich, daß 0,5 %iges Formaldehyd nach 6 Stunden, 1 %iges nach 2,5 Stunden und 2 %iges Formaldehyd nach 1,5 Stunden in der Lage ist, vakziniavirus-haltige Borkenstückchen zu inaktivieren. Nach Einwirkung der 1 %igen Formaldehydlösung auf die Borken zeigte sich auffälligerweise erst in der regelmäßig angelegten Subkultur ein eindeutig positiver Virusanzüchtungsversuch.

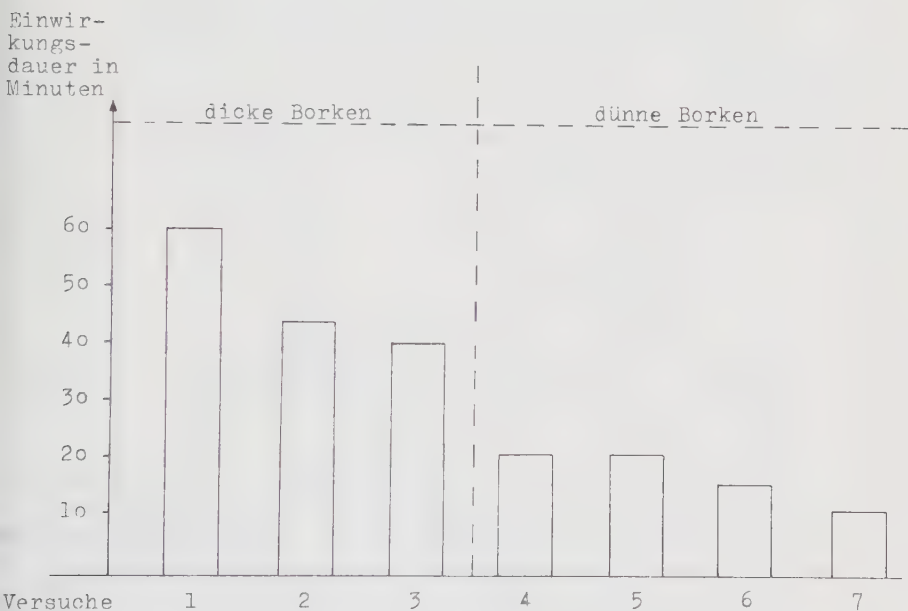
Zur Unterbrechung der desinfizierenden Wirkung wurden die Borkenstückchen nach der Entnahme aus der Suspension durch Spülung in 2 %iger Natrium-Sulfit-Lösung enthemmt. Vor der weiteren Aufbereitung spülten wir die Borkenstückchen in physiologischer Kochsalzlösung, um einen eventuell toxischen Effekt des Natriumsulfits auf die Chorioallantoismembran zu vermeiden.

Die folgende Abbildung 11 soll zeigen, daß die Versuchsergebnisse von der Qualität der Kaninchenborker abhängen, insbesondere von deren Dicke. Borkenstückchen, die von einem Tier stammten, besaßen durchaus unterschiedliche Dicken und vermutlich einen differierenden Virusgehalt (letzteres ist von uns nicht vergleichend geprüft worden). Nimmt man dickere Borken in den Versuch, so können - insbesondere im Fall von Formalin, das nur durch langsame Diffusion in die Borke einzudringen vermag - unterschiedliche Desin-

fektionszeiten beobachtet werden. Aus diesem Grunde empfehlen wir bei der Festlegung von Konzentrationen und Einwirkungsauern chemischer Desinfektionsmittel zur Inaktivierung von Pockenborken einen größeren Sicherheitszuschlag (s. unter "Diskussion").

Abbildung 11

Einwirkung von 2 %igem Formaldehyd auf verschieden dicke, vakziniavirus-haltige Kaninchenborken eines Tieres



Erläuterungen: Die Versuche 1 - 3 wurden mit dickeren (Über 2 mm), die Versuche 4 - 7 mit dünneren (ca. 1 mm) Borkenstückchen durchgeführt. Es ist ersichtlich, daß zur vollständigen Desinfektion der dickeren Borkenstückchen erwartungsgemäß längere Einwirkungsauern erforderlich waren.

Tabelle 7

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-
haltigen Kaninchen borken mit 0,5 %igem Formaldehyd

Wirkstofftyp und Konzentration: Formaldehyd 0,5 %ig					
Einwirkungs- dauer in Stunden	Anzahl der Versuche				
	1	2	3	4	5
0,5	Ø + Sk positiv	+	+	n. d.	n. d.
1	Ø + Sk positiv	+	+	n. d.	n. d.
1,5	Ø + Sk positiv	n. d.	Ø + Sk positiv	n. d.	n. d.
2	n. d.	n. d.	Ø + Sk positiv	n. d.	n. d.
2,5	n. d.	n. d.	Ø + Sk positiv	n. d.	n. d.
4	n. d.	n. d.	n. d.	Ø + Sk positiv	Ø + Sk negativ
6	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	Ø + Sk negativ

Erläuterungen: 0,5 %iges Formaldehyd ist in der Lage, die Bor-
kenstückchen nach 6 Stunden vollständig zu inak-
tivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 4

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 96

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

Ø +: fragliche Virusisolierung

+: positiver Virusisolierungsversuch

Sk positiv: Subkultur zeigte Virusvermehrung

Sk negativ: Subkultur zeigte keine Virusvermehrung

n. d. : nicht durchgeführt

Tabelle 8

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-
haltigen Kaninchen borken mit 1 %igem Formaldehyd

Wirkstofftyp und Konzentration: Formaldehyd 1 %ig			
Einwirkungs- dauer in Minuten	Anzahl der Versuche		
	1	2	3
15	n. d.	n. d.	n. d.
30	n. d.	n. d.	n. d.
60	Ø	n. d.	n. d.
90	Ø	n. d.	n. d.
120	Ø + Sk positiv	Ø + Sk positiv	Ø + Sk negativ
150	n. d.	n. d.	Ø + Sk negativ

Erläuterungen: 1 %iges Formaldehyd ist in der Lage, die Borken-
stückchen nach 2,5 Stunden vcllständig zu inak-
tivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 4

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 40

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

Ø + : fragliche Virusisolierung

+ : positiver Virusisolierungsversuch

Sk positiv: Subkultur zeigte Virusvermehrung

Sk negativ: Subkultur zeigte keine Virusvermehrung

n. d.: nicht durchgeführt

Tabelle 9

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vinkiniavirus-haltigen Kärlinchenborken mit 2 %igem Formaldehyd

Wirkstofftyp und Konzentration: Formaldehyd 2 %ig											
		Anzahl der Versuche									
Einwirkungs- dauer in Minuten	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
10	∅	n. d.	n. d.	+	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	
20	∅	∅	n. d.	∅	+	+	+	+	+	n. d.	
30	∅	n. d.	Sk ∅	∅	∅	∅	∅	+	n. d.	+	
40	∅	∅	n. d.	∅	∅	∅	∅	+	+	n. d.	
60	n. d.	∅	Sk ∅	∅	n. d.	n. d.	∅	∅	+	+	
90	n. d.	∅	Sk ∅	n. a.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	
120	n. d.	∅	Sk ∅	n. d.	n. d.	n. a.	n. d.	n. d.	n. d.	Sk ∅	

Erläuterungen: 2 %iges Formaldehyd ist in der Lage, die Borkenstückchen nach 30 Minuten vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 5

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 210

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

Sk Ø : keine positive Virusisolierung in der Subkultur

+ : positiver Virusisolierungsversuch

n. d.: nicht durchgeführt

b. Glutaraldehyd

Glutaraldehyd ("Alhydex^R") wurde in 2 %iger Gebrauchsverdünnung angewendet. Nach Entnahme der Borkenstückchen aus der Desinfektionsmittellösung entfernten wir anhaftendes Glutaraldehyd mit Fließpapier und spülten die Borkenstückchen sorgfältig in physiologischer Kochsalzlösung, um die desinfizierende Wirkung zu unterbrechen und toxische Effekte auf das Brutei zu vermeiden. Die Ergebnisse der Versuche zeigt die Tabelle 10.

Es ist ersichtlich, daß 2 %iges Glutaraldehyd die Borkenstückchen nach 60 Minuten inaktiviert.

Tabelle 10

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken mit 2 %igem Glutaraldehyd

Wirkstofftyp und Konzentration: Glutaraldehyd 2 %ig			
	Anzahl der Versuche		
Einwirkungs- dauer in Minuten	1	2	3
5	n. d.	+	n. d.
10	n. d.	+	n. d.
20	+	n. d.	+
30	n. d.	+	n. d.
40	n. d.	n. d.	+
60	Ø	Ø	Ø
90	n. d.	Ø	Ø
120	n. d.	n. d.	Ø

Erläuterungen: 2 %iges Glutaraldehyd ist in der Lage, die Borkenstückchen nach 60 Minuten vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 4
Gesamtzahl der verwendeten Eier: 48

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung
+ : positiver Virusisolierungsversuch
n.d.: nicht durchgeführt

c. Lysoformin

Es kamen beide von der Herstellerfirma Lysoform angegebenen Gebrauchsverdünnungen, 2 % und 3 %, in den Versuch. Die desinfizierten Borkenstückchen wurden auf Fließpapier getrocknet und wie ein Formalinpräparat enthemmt. Die Ergebnisse der Versuche sind in Tabelle 11 enthalten. Hieraus ist zu ersehen, daß 2 bzw. 3 %iges Lysoform in der Lage ist, die Borkenstückchen nach 90 Minuten zu inaktivieren.

Tabelle 11

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-
haltigen Kaninchenborken mit 2 bzw. 3 %igem Lysoformin

Wirkstofftyp und Konzentration:	Formaldehyd, Präparat: Lysoformin 2 bzw. 3 %ig	
Einwirkungsdauer in Minuten	Lysoformin	
	2 %	3 %
30	+	+
60	+	+
90	Ø	Ø

Erläuterungen: 2 bzw. 3 %iges Lysoformin ist in der Lage, die
Borkenstückchen nach 90 Minuten vollständig zu
inaktivieren. Die Versuche wurden einmal mit
dem selben Ergebnis wiederholt.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer:

Gesamtzahl der verwendeten Eier:

6

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+ : positiver Virusisolierungsversuch

d. Chloramin T

Für diese Versuche wurde die von der Herstellerfirma angegebene 2 %ige Lösung verwendet. Anhaftende Desinfektionsmittelreste wurden mit 1 %igem Natriumsulfit enthemmt. Die Ergebnisse der Versuche zeigt die Tabelle 12. Aus ihr ist zu ersehen, daß 2 %iges Chloramin die Borkenstückchen nach 2 Stunden inaktiviert.

Tabelle 12

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken mit 2 %igem Chloramin T

Wirkstofftyp und Konzentration:		organisches Chloramin: ChloraminT 2%ig		
		Anzahl der Versuche		
Einwirkungsdauer in Minuten		1	2	3
20		+	+	n. d.
40		Ø	+	n. d.
60		Ø	Ø	+
120		Ø	n. d.	Ø

Erläuterungen: 2 %iges Chloramin T ist in der Lage, die Borkenstückchen nach 2 Stunden vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 5

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 45

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+

n.d. : nicht durchgeführt

c. Phenol

Phenol kam in 5 %iger Konzentration zur Anwendung. Die Desinfektionsmittelreste wurden mit 1 %iger Tween 80 - Lösung enthemmt oder das überschüssige Phenol wurde mit physiologischer Kochsalzlösung über Fließpapier ausgespült. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 13. 5 %iges Phenol inaktiviert die Borkenstückchen in einer Stunde.

Tabelle 13

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken mit 5 %igem Phenol

Wirkstofftyp und Konzentration:		Phenol 5 %ig		
		Anzahl der Versuche		
Einwirkungs-dauer in Minuten	1	2	3	4
30	+	n. d.	n. d.	n. d.
1	n. d.	+	n. d.	n. d.
5	+	Ø	Ø	n. d.
10	Ø	Ø	Ø	Ø
15	Ø	n. d.	Ø	Ø
100	n. d.	n. d.	n. d.	Ø

Erläuterungen: 5 %iges Phenol ist in der Lage, die Borkenstückchen nach einer Stunde vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungs-dauer: 4

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 52

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+

n. d.: nicht durchgeführt

f. Amocid

Amocid ist ein kommerziell erhältliches Präparat mit nur geringem Phenolgehalt (ca. 1 %ig). Nach der Desinfektion enthemmten wir mit 1 %igem Tween 80. Die Ergebnisse zeigt Tabelle 14. Amocid inaktiviert die Borkenstückchen in 2 Stunden.

Tabelle 14

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken mit 5 %igem Amocid

Wirkstofftyp und Konzentration:		Amocid 5 %ig				
		Anzahl der Versuche				
Einwirkungs-dauer in Minuten		1	2	3	4	5
15		+	+	+	n. d.	n. d.
30		n. d.	+	+	+	n. d.
60		+	+	+	+	n. d.
90		n. d.	n. d.	n. d.	Ø	+
120		n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	Ø Sk negativ
150		n. d.	n. d.	n. d.	n. d.	Ø Sk negativ

Erläuterungen: 5 %iges Amocid ist in der Lage, die Borkenstückchen nach 2 Stunden vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungs-dauer: 4

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 64

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+: positiver Virusisolierungsversuch

n. d.: nicht durchgeführt

Sk negativ: Subkultur zeigte keine Virusvermehrung

g. Alkohole

Es kamen zur Anwendung: 80 vol. %iger Äthylalkohol, 70 vol. %iger Isopropylalkohol und 60 vol. %iger N-propylalkohol. Nach der Desinfektion der Borkenstückchen spülten wir diese zweimal in physiologischer Kochsalzlösung aus und trockneten sie auf Fließpapier. Ein Enthemmungsmittel für Alkohole ist nicht bekannt. Die Ergebnisse der Versuche zeigen die Tabellen 15 - 17. Zwischen den verschiedenen Alkoholen konnten wir keinen Unterschied bezüglich ihrer Wirkung bei der Desinfektion feststellen. Alkohole desinfizieren vakziniavirus-haltige Kaninchenborken nach Ablauf von 3 Stunden.

Tabelle 15

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken mit 80 vol. %igem Äthylalkohol

Wirkstofftyp und Konzentration:	Äthylalkohol 80 vol. %ig		
	Anzahl der Versuche		
Einwirkungsdauer in Minuten	1	2	3
30	+	+	n. d.
60	+	+	+
90	Ø	+	n. d.
120	n. d.	n. d.	+
180	n. d.	n. d.	Ø Sk negativ

Erläuterungen: 80 vol. %iger Äthylalkohol ist in der Lage, die Borkenstückchen nach 3 Stunden vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier: für jede Einwirkungsdauer: 4
Gesamtzahl der verwendeten Eier: 40

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+: positiver Virusanzüchtungsversuch

n. d.: nicht durchgeführt

Sk negativ: Subkultur zeigt keine Virusvermehrung

Tabelle 16

Ergebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-
haltigen Kaninchenborken mit 70 vol. %igem Isopropylalkohol

Wirkstofftyp und Konzentration:		Isopropylalkohol 70 vol. %ig		
		Anzahl der Versuche		
Einwirkungsdauer in Minuten		1	2	3
30		+	+	n. d.
60		+	+	+
90		+	+	n. d.
120		n. d.	n. d.	+
180		n. d.	n. d.	Ø Sk negativ

Erläuterungen: 70 vol. %iger Isopropylalkohol ist in der Lage,
die Borkenstückchen nach 3 Stunden vollständig
zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 4

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 40

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+: positiver Virusisolierungsversuch

n. d.: nicht durchgeführt

Sk negativ: Subkultur zeigt keine Virusvermehrung

elle 17

ebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-
tigen Kaninchenborken mit 60 vol. %igem N-propylalkohol

Arkstofftyp und konzentration:		N-propylalkohol 60 vol. %ig		
		Anzahl der Versuche		
Einwirkungs- dauer Minuten		1	2	3
30		+	+	n. d.
60		+	+	+
90		+	Ø	n. d.
120		n. d.	n. d.	+
180		n. d.	n. d.	Ø Sk negativ

Bemerkungen: 60 vol. %iger N-propylalkohol ist in der Lage,
die Borkenstückchen nach 3 Stunden vollständig
zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungs-
dauer: 4
Gesamtzahl der verwendeten Eier: 40

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+: positiver Virusisolierungsversuch

n. d.: nicht durchgeführt

Sk negativ: Subkultur zeigte keine Virusvermehrung

h. Killavon

Killavon ist ein Präparat aus der Gruppe der quartären Ammoniumverbindungen und kommerziell erhältlich. Es wird 10 %ig angewendet. Die Entsemmung von Desinfektionsmittelresten erfolgte durch 0,5 %ige Kaliseife mit nachfolgender Spülung in physiologischer Kochsalzlösung. Die Ergebnisse der Versuche zeigt die Tabelle 18; 10 %iges Killavon vermag die Borkenstückchen selbst nach 18 Stunden nicht zu inaktivieren.

elle 18

ebnisse der chemischen Desinfektion von vakziniavirus-
tigen Kaninchenborken mit 10 %igem Killavon

Anzahl der Versuche	Anzahl der Versuche				
	1	2	3	4	5
Einwirkungs- dauer Stunden					
0,5	+	n. d.	}	}	}
1	+	n. d.			
1,5	+	n. d.			
2	}	+	}	}	}
2,5		+			
3		+			
4		}	+	}	}
6			+		
8			+		
12	}	}	n. d.	+	+
18			n. d.	Ø	+

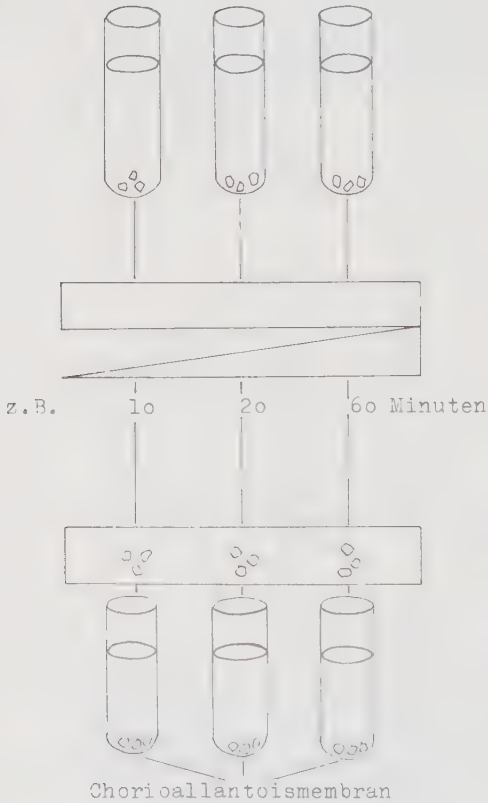
uterungen: 10 %iges Killavon ist nicht in der Lage, die
Borkenstückchen nach 18 Stunden vollständig zu
inaktivieren.

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 5
Gesamtzahl der verwendeten Eier: 65

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung
+ : positiver Virusisolierungsversuch
n. d.: nicht durchgeführt

Abbildung 12

Prinzip der Durchführung eines Desinfektionsmittel-Suspensionsversuchs



Reagenzglas mit Borken-
stückchen im chemischen
Desinfektionsmittel

Versuchsansatz:

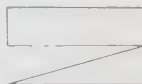
Desinfektionsmittel
(Konzentration gleichbleibend)

Zeit (ansteigend)

Borken auf Filterpapier

Gegebenenfalls Borken im
Enthemmungsmittel
(im Reagenzglas)

Erläuterungen:



gleichbleibende Konzentration

ansteigende Zeit

2. Schlußdesinfektionsversuche (Raumdesinfektionsversuche)

Die Ergebnisse der Formalin-Schlußdesinfektionsversuche sind in der Tabelle 19 zusammengefaßt worden. Der Desinfektionserfolg wurde geprüft, indem der Virusgehalt der desinfizierten Borken mit dem der Kontrollborken verglichen wurde. Es ist ersichtlich, daß die im Pockenalarmplan (27) empfohlene Formalin-Schlußdesinfektion (Einwirkungsdauer 6 Stunden, 5 g Formaldehyd pro Kubikmeter Raum, Luftfeuchte über 75 %) in einem möblierten Raum nicht mehr als 85 % der in den Krusten eingebetteten Vakziniaviren inaktiviert. Eine Verlängerung der Einwirkungsdauer führte zu keiner entscheidenden Verbesserung des Desinfektionsergebnisses. Dagegen kam es nach Verdoppelung der Formaldehydkonzentration zu einer höheren Virusinaktivierungsrate (bis zu 95 %).

Die mit Formaldehyd behandelten Borken wurden auch skarifizierten Kaninchen appliziert, um mögliche unspezifische Ausfälle in den Testsystemen zu erkennen und teilgeschädigte Viren eventuell zu reaktivieren. In keinem Fall konnten derartige Effekte nachgewiesen werden. Von den Eikulturen und Kaninchenhauteruptionen wurden regelmäßig Subkulturen angelegt, die immer positiv ausfielen.

Tabelle 19

Schlußdesinfektionsversuche (Raumdesinfektionsversuche)

Raumgröße ¹⁾	73 m ³	60 m ³	
vernebelte Menge Formalin/Wasser	2400 ml/2400 ml	900 ml/900 ml	
Temperatur des Raumes	19 - 22° C	20 - 22° C	
Lagerung der Krusten ³⁾	auf Leinen	auf Glas und Leinen	
Einwirkungsdauer	6 Stunden	6 Stunden	24 Stunden
Luftfeuchte bei Ablauf der Einwirkungs- dauer	80 - 95 %	50 - 60 %	80 - 93 %
Anzahl der Versuche ²⁾	2	2	3
Subkultur	positiv	positiv	positiv
Reduktion des Virus- titers	90 % 95 %	92 % 95 %	70% 75% 80%
			80% 75% 70%

Legende: 1) Möblierung: 2 Betten, 2 Stühle, 2 Nachttische

2) die Versuche wurden in etwa 8-tägigem Abstand unter den gleichen Bedingungen wiederholt

3) insgesamt kamen Krusten von 10 Kaninchen zur Anwendung. In einen Versuch wurden jeweils Krustenstückchen zweier Tiere genommen.

Die zur Schlußdesinfektion verwendeten Borken wurden unterschiedlich aufgearbeitet.

In Tabelle 20 sind die Ergebnisse der vergleichenden Studien über den Virusgehalt pulverisierter und fein zerschnittener Kaninchenborken enthalten.

Tabelle 20

Vergleichende Versuche zur Virusgehaltbestimmung pulverisierter fein zerschnittener Kaninchenborken vor und nach erfolgter Schlußdesinfektion

Vakziniavirusgehalt/mg Borke			
vor		nach	
Schlußdesinfektion			
pulverisiert	zerschnitten	pulverisiert	zerschnitten
74	294	30	104

Bemerkungen: Die Zahlen geben den Virusgehalt in plaquebildenden Einheiten pro mg aufgearbeiteter Borken an. Es ist zu ersehen, daß der Pulverisierungsprozeß den Gehalt an vermehrungsfähigen Viren stärker vermindert, sodaß dieses Verfahren der Aufarbeitungsmethode des Zerschneidens der Borken unterlegen ist. Der viruzide Effekt der Schlußdesinfektion ist allerdings an beiden Aufbereitungsverfahren gleichartig sichtbar; er liegt zwischen 60 und 65 %.

3. Händedesinfektionsversuche

Die Bestimmung der ID 50 (Viruskonzentration, die bei 50 % der Bruteier Infektionen hervorruft) der verwendeten Stammlymphe des Vakzinevirus ergab einen Wert von $\lg ID 50 = -6,22$ (s. Tabelle 23).

Damit lag ein wichtiger Anhaltspunkt über den Virusgehalt des Ausgangsmaterials vor. Mit diesem Material wurden die eigenen Fingerkuppen künstlich kontaminiert (Selbstversuche; s. unter "Material und Methoden").

Nach Kontamination der Fingerkuppen und Ablauf der jeweiligen Desinfektionszeit wurden die Fingerkuppen in phosphatgepufferter physiologischer Kochsalzlösung vom pH 7,6 ausgeknetet. Die Ausknetflüssigkeit wurde direkt auf Eier verimpft. Als Desinfektionsmittel dienten 70 vol. %iger Isopropylalkohol und 1,5 %iges Chloramin T. Die Ergebnisse der Versuche sind in den Tabellen 21 - 23 aufgeführt.

Es ist ersichtlich, daß die mit der vakziniavirus-haltigen Stammlymphe kontaminierten Hände durch 70 vol. %igen Isopropylalkohol in 5 Minuten und durch 1,5 %iges Chloramin T in 2 Minuten desinfiziert werden.

elle 21

ebnisse der Händedesinfektionsversuche mit 1,5 %igem
Chloramin T

Einwirkungs- dauer in Minuten	Anzahl der Versuche					
	1	2	3	4	5	6
10	n. d.	n. d.	+	+	n. d.	n. d.
20	n. d.	n. d.	+	+	n. d.	n. d.
30	n. d.	Ø	n. d.	+	+	+
60	Ø	Ø	n. d.	n. d.	+	Ø

Einwirkungs- dauer in Minuten						
2	Ø	Ø	n. d.	n. d.	Ø	Ø
3	Ø	Ø	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.
5	Ø	Ø	n. d.	n. d.	n. d.	n. d.

Bemerkungen: 1,5 %iges Chloramin T ist in der Lage, mit vakzi-
niavirus-haltiger Stammlymphe kontaminierte Hän-
de nach 2 Minuten vollständig zu desinfizieren.

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+

n. d.: nicht durchgeführt

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 5

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 100

Tabelle 22

Ergebnisse der Händedesinfektionsversuche mit 70 vol. %igem Isopropylalkohol

	Anzahl der Versuche		
Einwirkungsdauer in Minuten	1	2	3
1	+	+	+
2	+	n. d.	n. d.
3	+	n. d.	n. d.
5	Ø	n. d.	n. d.

Erläuterungen: 70 vol. %iger Isopropylalkohol ist in der Lage, mit vakziniavirus-haltiger Stammlymphe kontaminierte Hände nach 5 Minuten vollständig zu desinfizieren.

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung
 + : positiver Virusisolierungsversuch
 n. d.: nicht durchgeführt

Anzahl der Eier für jede Einwirkungsdauer: 5
 Gesamtzahl der verwendeten Eier: 30

Tabelle 23

Ergebnisse der Bestimmung der ID 50 einer Vakzine-
Stammlymphe nach Reed und Lunch (30)

Lymphverdünnung	nicht infizierte Eier	infizierte Eier	Zähler	
10^{-1}	0	6	37	
10^{-2}	0	6	31	
10^{-3}	0	6	25	
10^{-4}	0	6	19	
10^{-5}	1	5	13	
10^{-6}	2	4	8	
10^{-7}	4	2	5	
10^{-8}	4	2	3	
10^{-9}	5	1	1	
10^{-10}	6	0	0	

	Zwischensumme	Nenner	quotient	Prozent. Infektiosität
	0	37	37/37	100 %
	0	31	31/31	100 %
	0	25	25/25	100 %
	0	19	19/19	100 %
	1	14	13/14	93 %
	3	11	8/11	73 %
	7	12	5/12	42 %
	11	14	3/14	21 %
	16	17	1/17	6 %
	21	21	0/21	0 %

Erläuterungen: Prozentsatz der Infektiosität,
nächsthöher als 50 % = 73 %

Prozentsatz der Infektiosität,
nächstniedriger 50 % = 42 %

Der sich ergebende Abstandsfaktor
beträgt demnach: 0,22

lg ID 50:

lg der Verdünnungsstufe mit der nächst-
höheren Infektiosität als 50 % = - 6

+ (Abstandsfaktor * lg des Faktors
der Verdünnungs-
reihe = 0,22

= (0,22 * 1,0)

lg ID 50 = - 6,22

4. Desinfektion vakziniavirus-haltiger Kaninchenborken durch thermische Inaktivierung

Um über die thermische Resistenz der Borken eine Aussage machen zu können, wurden die Borkenstückchen eine Stunde bei 70 bzw. 90° C im Wasserbad mit und ohne Kochsalzlösung erhitzt. Die Ergebnisse zeigen die Tabellen 24 und 25. Aus ihnen ist zu ersehen, daß die Einwirkung von trockener Hitze über eine Stunde weder bei 70 noch bei 90° C ausreicht, um die Borkenstückchen zu inaktivieren. In Kochsalzlösung reichte eine Erhitzung der Borken auf 90° C und die Einwirkungsdauer von einer Stunde aus, um die Borkenstückchen zu inaktivieren. Nach der Erhitzung auf 70° C gelang es bei sonst gleichen Bedingungen, aus den Borkenstückchen Viren anzuzüchten.

Tabelle 24

Ergebnisse der Versuche zur Inaktivierung von vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken in physiologischer Kochsalzlösung bei 70 bzw. 90° C

Einwirkungsdauer: 1 Stunde				
	Anzahl der Versuche			
Temperatur in °C	1	2	3	4
90	Ø	Ø	Ø	Ø
70	Ø + Sk positiv	+	n. d.	n. d.

Erläuterungen: Bei einer Temperatur von 90° C wurden die Borkenstückchen nach einer Stunde vollständig inaktiviert; bei einer Temperatur von 70° C konnten noch nach einer Stunde Viren aus den erhitzten Borken isoliert werden.

Anzahl der Eier für jeden Versuch: 18

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 162

Von jedem Versuch wurde eine Subkultur angelegt, die das in der Tabelle ausgewiesene Ergebnis bestätigte.

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

+

n. d.: nicht durchgeführt

Ø + : fragliche Virusisolierung

Sk positiv: Subkultur zeigte Virusvermehrung

Tabelle 25

Ergebnisse der Einwirkung trockener Hitze auf vakziniavirus-
haltige Kaninchenborken

Einwirkungsdauer: 1 Stunde				
	Anzahl der Versuche			
Temperatur in °C	1	2	3	4
90	+	+	+	+
70	+	n. d.	n. d.	n. d.

Erläuterungen: Trockene Hitze von 70 bzw. 90° C ist bei einer
Einwirkungsdauer von 1 Stunde nicht in der Lage,
die Borkenstückchen vollständig zu inaktivieren.

Anzahl der Eier für jeden Versuch: 16

Gesamtzahl der verwendeten Eier: 90

+ : positiver Virusisolierungsversuch

n. d.: nicht durchgeführt

Die Ergebnisse der Inaktivierungsversuche vakziniavirus-haltiger Kaninchenborken im Desinfektionsgerät Vacudes 4000 sind in den Tabellen 26 und 27 aufgeführt. Es ist daraus zu ersehen, daß dieses Gerät in den Betriebsphasen 1 (Arbeit in 3 Dampfstößen) und 2 (Arbeit in 4 Dampfstößen) sowohl bei 75 als auch bei 105° C die Borkenstückchen sicher zu desinfizieren vermag.

Tabelle 26

Ergebnisse der Inaktivierungsversuche vakziniavirus-haltiger Kaninchenborken im Vacudes 4000 bei 105° C und 4 Dampfstößen

	Anzahl der Versuche		
	1	2	3
Ergebnisse	Ø	Ø	Ø

Erläuterungen: Das mit Matratzen gefüllte Desinfektionsgerät Vacudes 4000 ist bei dem Programm mit 4 Dampfstößen und 105° C in der Lage, die Borkenstückchen zu inaktivieren.

Von jedem Versuch wurden zwei Subkulturen angelegt, die das in der Tabelle ausgewiesene Ergebnis bestätigten. Auch auf der regelmäßig hinzugezogenen skarifizierten Kaninchenbauchhaut zeigte sich keine Virusreaktivierung.

Anzahl der Eier für jeden Versuch: 18
Gesamtzahl der verwendeten Eier: 108
Gesamtzahl der verwendeten Kaninchen: 3

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung

Tabelle 27

Ergebnisse der Inaktivierungsversuche vakziniavirus-haltiger Kaninchenborken im Vacudes 4000 bei 75° C

	Anzahl der Versuche	
	1	2
Dampfstöße III	Ø	Ø
Dampfstöße IV	Ø	n. d.

Erläuterungen: Das mit Matratzen gefüllte Desinfektionsgerät Vacudes 4000 ist bei 75° C mit 3 und 4 Dampfstößen in der Lage, die eingelegten Borkenstücken zu inaktivieren.

Von jedem Versuch wurden zwei Subkulturen angelegt, die das in der Tabelle ausgewiesene Ergebnis bestätigten. Auch auf der regelmäßig hinzugezogenen skarifizierten Kaninchenbauchhaut zeigte sich keine Virusreaktivierung.

Anzahl der Eier für jeden Versuch: 18
 Gesamtzahl der verwendeten Eier: 108
 Gesamtzahl der verwendeten Kaninchen: 3

Ø : keines der Eier zeigte Virusvermehrung
 n. d.: nicht durchgeführt

C. DISKUSSION

In der vorliegenden Arbeit wurden vakziniavirus-haltige Kaninchenborken mit unterschiedlichen Desinfektionsmitteln und -verfahren inaktiviert. Diese Borken stellen an die physikalische und chemische Desinfektion besonders hohe Anforderungen, da sich die Viren innerhalb einer festen Proteinhülle befinden. Ähnlich schwierig zu desinfizierende Testobjekte sind z.B. tuberkulöses Sputum oder hepatitisvirus-haltige Blutkoagula.

Da im Falle einer Pockenerkrankung des Menschen auch die Desinfektion der Hautborken sichergestellt sein muß, können Daten über die Desinfizierbarkeit von Pockenborken neben theoretischem Interesse besonders praktisches Interesse beanspruchen.

Aus Gründen der Infektionsgefährdung im Labor wurden zu den experimentellen Versuchen anstelle der echten Pockenborken des Menschen (Variola-major-Virus) vakziniavirus-haltige Kaninchenborken herangezogen. Dieses Vorgehen ist allgemein üblich, und es imitiert das humane Pockenvirusmodell insofern, als die Vakziniaviren eine ähnliche Desinfektionsmittelresistenz aufweisen.

Eine Zusammenfassung der Ergebnisse der Desinfektionsversuche mit vakziniavirus-haltigen Borken ist in der Abbildung 13 enthalten.

Zu Teilabbildung A: Versuche mit Borken, die 1 Stunde in vitro unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt wurden

Die Versuche, Kaninchenborken über eine Stunde thermisch zu inaktivieren, haben ergeben, daß

1. die Borken im trockenen Zustand bei einer Temperatur von 70 bzw. 90° C nicht vollständig desinfiziert werden konnten (Tabelle 25)
2. die Borken, suspendiert in physiologischer Kochsalzlösung, bei einer Temperatur von 90° C vollständig desinfiziert waren (Tabelle 24).

Damit wird die bekannte hohe Thermoresistenz der Vakzinia-viren bestätigt. In der Praxis ist die Anwendung einer niedrigeren Temperatur von 70°C ohne zusätzliche Dampfzuführung zur Pockenkrustendesinfektion nicht vorgesehen, sodass diese Werte mehr theoretisches Interesse beanspruchen.

Zu Teilabbildung B: Versuche mit Borken, die in einen Desinfektionsapparat (Vacudes 4000) eingelegt wurden

Im Gegensatz zu den in vitro ausgeführten thermischen Inaktivierungsversuchen (Teilabbildung A), sind diese Versuche unter Praxisbedingungen durchgeführt worden. Die in einem mit Matratzen gefüllten Desinfektionsapparat (Vacudes 4000) eingelegten Borken wurden bei unterschiedlichen Betriebsabläufen (drei bzw. vier Dampfstöße, Temperaturen von 75°C bzw. 105°C , Einwirkungsdauer um 10 Minuten pro Dampfstoß) vollständig desinfiziert. In der Praxis bedeutet dies, daß ein solches Gerät zur physikalischen Desinfektion von pockenvirus-haltigen Borken geeignet ist. Obwohl man von diesem Sachverhalt bisher ausging (16), lagen unseres Wissens bisher keine entsprechenden experimentellen Daten vor.

Zur Teilabbildung C: Suspensionsversuche mit Borken, die chemischen Desinfektionsmittel ausgesetzt wurden

Die Ergebnisse zeigen, daß mehrere Wirkstofftypen in der Lage sind, die Borken zu desinfizieren. Erwartungsgemäß sind längere Einwirkungsauern und relativ hohe Desinfektionsmittelkonzentrationen für eine vollständige Desinfektion der Borken erforderlich.

Hinsichtlich der Resistenz der vakzinia-virus-haltigen Borken liegen Untersuchungen von Pöhn und Heicken vor (28). Als geeignet zur Scheuerdesinfektion empfehlen die Autoren eine 1 %ige Formaldehyd- (= 3 % Formalin) bzw. eine 3 %ige Chloraminlösung bei einer Einwirkungsdauer von vier Stunden. Zur Wäschedesinfektion lautet ihre Empfehlung: Formaldehyd bzw. Chloramin 1,5 % - 12 Stunden. Dabei wurde von den Autoren be-

reits ein "Sicherheitsfaktor" eingebaut, da 0,5 %iges Formaldehyd schon nach 30 Minuten eine vollständige Desinfektion bewirkte. Diesen günstigen Desinfektionseffekt können wir aufgrund zahlreicher Versuche und Subkultivierungen nicht bestätigen; 0,5 %iges Formaldehyd erwies sich auch nach vierstündiger Einwirkungsdauer noch ineffektiv. Dagegen sind unsere Erfahrungen mit 2 %igem Chloramin T günstiger (vollständiger Desinfektionseffekt: eigene Ergebnisse nach 90 Minuten; Pöhn und Heicken: nach 4 Stunden).

Als Dialdehyd haben wir das 2 %ige Glutaraldehyd auf vakziniavirus-haltige Borken einwirken lassen und regelmäßig noch günstigere Desinfektionsergebnisse erhalten als mit 2 %igem Formaldehyd bzw. Lysoformin 2 %.

Bezüglich des Wirkungsgrades von Phenol decken sich die Ergebnisse unserer Suspensionsversuche mit den Angaben von Pöhn und Heicken (vollständige Desinfektion nach 1 Stunde).

Bei den Alkoholen differieren die Werte (Pöhn und Heicken (28): 6 Stunden; eigene Versuche: 3 Stunden).

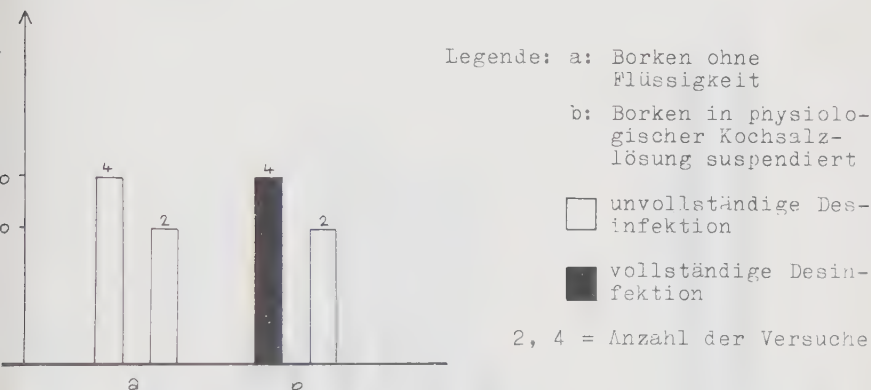
Besonders ungünstige Desinfektionswirkungen haben wir mit der quartären Amoniumverbindung "Killavon 10 %" erhalten. Noch nach achtzehnstündiger Einwirkungsdauer konnte keine vollständige Desinfektionswirkung erreicht werden.

Abbildung 13

Zusammenfassung der Ergebnisse von Desinfektionsversuchen mit vakziniavirus-haltigen Kaninchenborken

Teilabbildung A

Versuche mit Borken, die 1 Stunde in vitro unterschiedlichen Temperaturen ausgesetzt wurden



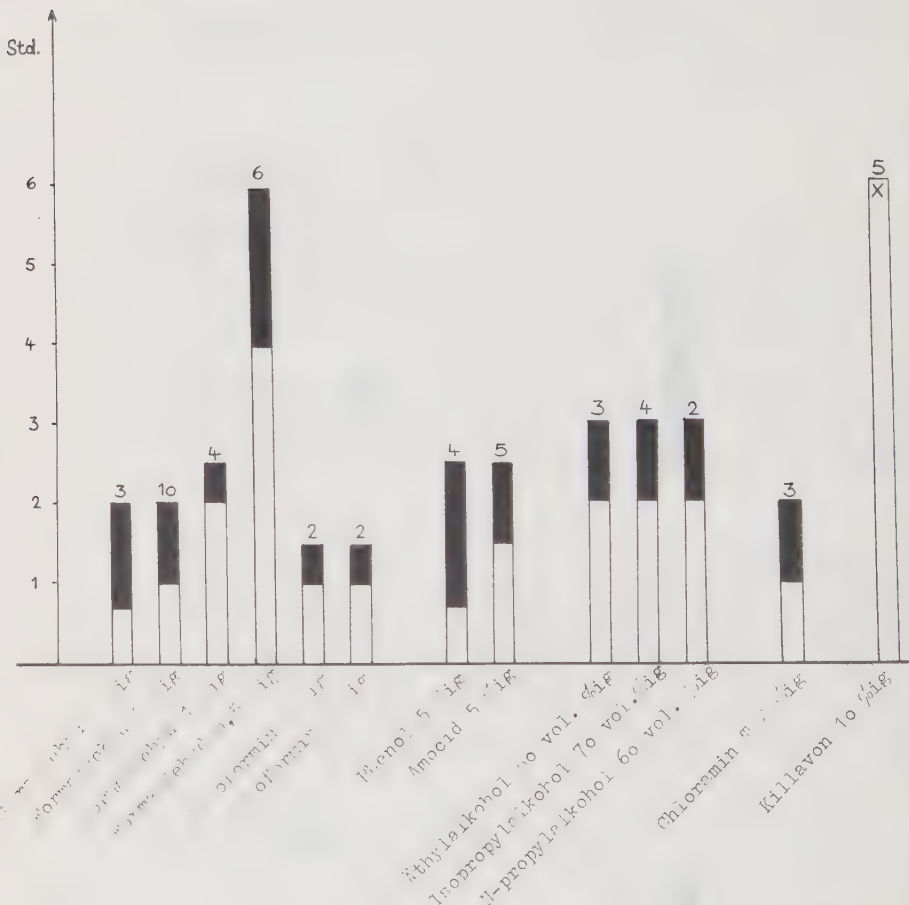
Teilabbildung B

Versuche mit Borken, die in einen Desinfektionsapparat (Vacudes 4000) eingelegt wurden



Teilabbildung C

Suspensionsversuche mit Borken, die chemischen Desinfektionsmitteln ausgesetzt wurden



Legende:



komplett desinfiziert



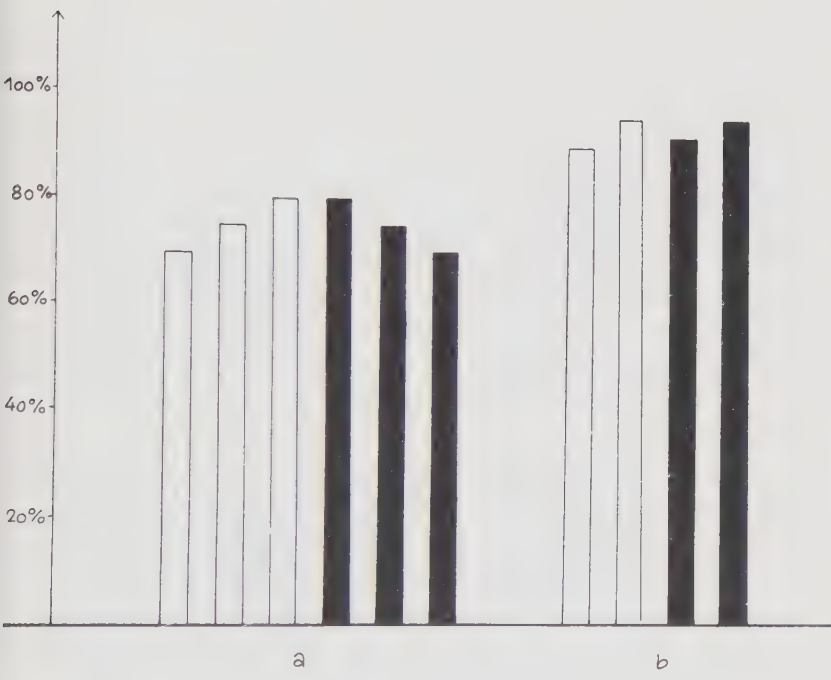
nicht komplett desinfiziert

Die Zahlen über den einzelnen Säulen geben die jeweilige Anzahl der durchgeführten Versuche an

x) keine komplette Desinfektion nach 18 Stunden

Teilabbildung D

Schlußdesinfektionsversuche mit Formalindampf in möblierten Krankenzimmern



Legende: verdampft wurden a: 900 ml Formalin/ 900 ml Wasser
-60 m³ Raum

b: 2400 ml Formalin/2400 ml Wasser
-73 m³ Raum

- 6 Stunden Einwirkungsdauer
- 24 Stunden Einwirkungsdauer

Zu Teilabbildung D: Schlußdesinfektionsversuche mit Formalindampf in möblierten Krankenzimmern

Das Borkenmodell stellt wie erwähnt an die Desinfektionsmittel und -verfahren besonders hohe Anforderungen. Die Desinfektionsmittel müssen die in Proteine eingebetteten Vakziniaviren erreichen und sicher inaktivieren. Im Falle der Schlußdesinfektion mit Formalindampf ist es daher nicht überraschend, daß das Desinfektionsmittel nur in hohen Konzentrationen und langsam in derartige Borken einzudringen vermag. Großgebauer und Mitarbeiter (12) empfehlen im Falle von Pocken aufgrund von Raumesinfektionsversuchen, bei der Schlußdesinfektion von Krankenzimmern eine Verdoppelung der Formaldehydmengen (10 g Formaldehyd pro Kubikmeter Raum) und eine Verlängerung der Einwirkungsdauer auf 24 Stunden. Parallel hierzu angesetzte eigene Versuche bestätigen diese Untersuchungsergebnisse (Tabelle 13, Teilabbildung D).

Eine ähnliche Empfehlung wird von Hudemann und Weufen gegeben ohne jedoch die Prüfmethode und Versuchsergebnisse vorzulegen (16). Schon früher wurde auf die Schwierigkeit hingewiesen, pockenvirus-haltige Borken zu desinfizieren, so z.B. von dem Komitee zur Formaldehyddesinfektion des Public Health Laboratory Service. Den Autoren (5) gelang es in besonders konstruierten Desinfektionskammern nicht, je vier Borken von Pocken- und Alastrimkranken selbst nach vierundzwanzigstündiger Einwirkungsdauer sicher zu desinfizieren.

Gildemeister und Mitarbeiter (2), die bereits im Jahre 1930 umfangreiche Versuche über die Wirksamkeit chemischer Desinfektionsmittel gegenüber Vakziniaviren durchführten, prüften auch die Wirksamkeit der Formaldehyd-Raumesinfektion nach dem Flügge'schen Verfahren. Sie stellten fest, daß das Virus in fein gepulvertem Borkenmaterial durch eine vierstündige Formaldehydeinwirkung nicht völlig abgetötet wurde. Es blieb allerdings unentschieden, ob die Ursache der unzureichenden Wirkung darin zu sehen war, daß das

Virus in dem Borkenmaterial nicht ausreichend leicht erreichbar war oder darin, daß die in den Verdampfer eingefüllte Formaldehydlösung nicht vollständig verdampft wurde; statt 5 Gramm wurden nur 4 Gramm Formaldehyd pro Kubikmeter Raum verdampft.

Zur Händedesinfektion: In Selbstversuchen an mit Vakziniaviren künstlich kontaminierten Händen wurden Chloramin T und Isopropylalkohol auf ihre Desinfektionswirkung hin untersucht. Händedesinfektionsversuche haben im Falle des Auftretens von Pocken eine besonders praktische Bedeutung (3, 14, 15, 25), weil Pockenviren außerhalb des Körpers widerstandsfähig sind und auch durch Schmutz- und Schmierinfektion übertragen werden.

Die Versuche bestätigen die Selbstversuche von Großgebauer (14), daß 70 vol. %iger Isopropylalkohol nach fünfminütiger Einwirkungsdauer die vakziniavirus-haltigen Hände sicher desinfiziert; sie kommen darüber hinaus zu dem Ergebnis, daß 1,5 %iges Chloramin T nach zweiminütiger Einwirkungsdauer befriedigende Desinfektionsergebnisse zeigt. Bei diesen Versuchen muß ausdrücklich betont werden, daß die Zahl der geprüften Hände (zwei Hände ein und derselben Person) zu niedrig ist, um eine sichere Aussage über die Wirksamkeit der verwendeten chemischen Desinfektionsmittel zu machen. Diese Erfahrungen wurden bei der Prüfung von Händedesinfektionsmitteln für bakterizide Zwecke gemacht und entsprechende Forderungen aufgestellt (mindestens 15 verschiedene Versuchspersonen, d.h. 30 Hände (6)). Aus Gründen der Sicherheit wurden zusätzlich keine weiteren Versuchspersonen zu dieser Testung herangezogen.

Unsere Erfahrungen mit Borken unterschiedlicher Tierherkunft, Dicke und verschiedenen Alters zeigten erwartungsgemäß, daß es kein völlig einheitliches Testmodell "Borke" gibt. Insbesondere die Borkendicke und das Alter der Borke sind Variablen, die den Desinfektionseffekt des Mittels stark beeinflussen können. Es ist kaum möglich, immer von Borken identischer Beschaffenheit auszugehen. Ähnliche Schwierigkeiten kennt man von der Sputumdesinfektion her.

Um Schwankungen im Schwierigkeitsgrad der Desinfizierbarkeit auszugleichen, haben wir in die Versuche stets mehrere Borken von 2 - 3 Tieren genommen und sind von frischen Borken ausgegangen (1 - 10 Tage nach der Gewinnung). Zudem wurden Borken ausgesucht, die etwa die gleiche Beschaffenheit besaßen (0,3 - 0,8 cm Länge, 1 - 2 mm Dicke und 0,4 - 0,6 cm Breite). Die unterschiedlichen Ergebnisse zu anderen Autoren (28) lassen sich auf das schwer zu normende Testmodell "Borke" zurückführen.

Solange nicht weitere Versuchsergebnisse vorliegen scheint es empfehlenswert, bei der praktischen Desinfektion von Pockenborken "Sicherheitsfaktoren" einzubauen. Das bedeutet im Falle einer chemischen Desinfektion höhere Konzentrationen und längere Einwirkungsauern anzuwenden, als im Experiment ermittelt wurden. Der genaue "Sicherheitszuschlag" sollte nach Absprache der zuständigen Stellen erfolgen.

D. ZUSAMMENFASSUNG

Vakziniavirus-haltige Kaninchenborken wurden physikalischen und chemischen Desinfektionsverfahren unterworfen.

Borkenstückchen wurden in vitro ohne Flüssigkeit bzw. in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert, 1 Stunde bei 70 bzw. 90° C belassen. Eine komplette Inaktivierung der vakziniavirus-haltigen Borkenstückchen trat lediglich bei den Proben auf, die 1 Stunde bei 90° C inkubiert und in physiologischer Kochsalzlösung suspendiert worden waren.

Borkenstückchen, die in einen mit Matratzen gefüllten Desinfektionsapparat (Vacudes 4000) eingelegt wurden, erwiesen sich bei den gewählten Desinfektionsprogrammen stets als frei von vermehrungsfähigen Vakziniaviren.

In einer anderen Versuchsreihe wurden Borkenstückchen einer Desinfektion mit chemischen Desinfektionsmitteln unterworfen. Unter Zugrundelegung des Suspensionsversuchs und einer Einwirkungsdauer von 90 Minuten wirkten Glutaraldehyd 2 %ig, Formaldehyd 2 %ig, Lysolformin 2 %ig bzw. 3 %ig, Phenol 5 %ig und Chloramin T 2 %ig auf die Borken vollständig desinfizierend. Nach dreistündiger Einwirkungsdauer wirkten die geprüften Alkohole (Äthylalkohol 80 vol. %ig, Isopropylalkohol 70 vol. %ig, N-propylalkohol 60 vol. %ig) sowie Amocid 5 %ig und Formaldehyd 1 %ig gleichfalls auf die Borken vollständig desinfizierend. Nach sechsstündiger Einwirkungsdauer wirkte der Formaldehyd 0,5 %ig komplett desinfizierend. Lediglich die quartäre Amoniumverbindung Killavon 10 % erwies sich selbst nach achtzehnstündiger Einwirkungsdauer auf die Borke noch nicht voll effektiv.

Bezüglich der Händedesinfektionsversuche mit Chloramin T 1,5 %ig und Isopropylalkohol 70 %ig zeigte sich eine vollständige Desinfektionswirkung nach 2 bzw. 5 Minuten.

In weiteren Versuchen wurden vakziniavirus-haltige Kaninchenborken in Krankenzimmer ausgelegt, die man einer Schluss-

desinfektion mit verdampftem Formalin unterzog. Es konnte festgestellt werden, daß eine in üblicher Weise durchgeführte Formalin-Schlußdesinfektion die Borken nur unvollständig zu desinfizieren vermochte und erst eine Verdoppelung der Formalinmenge (10 g Formaldehyd pro Kubikmeter Raum) sowie eine Verlängerung der Einwirkungsdauer auf 24 Stunden höhere Desinfektionsraten zeigte.

E. SCHRIFTUMVERZEICHNIS

1. Bader, R.-E.:

Gehäuftes Vorkommen von *Molluscum contagiosum* im Bereich eines Schwimmbades.

Arch. Hyg. 151, 388, 1967

2. Bingel, K.F.:

Die experimentelle Virusdesinfektion (Ergebnisse und Methoden).

Beiträge zur Hygiene und Epidemiologie, Heft 10;

Joh. Ambrosius Barth - Verlag, Leipzig 1957

3. Bingel, K.F. u. Hermann, C.:

Die experimentelle Desinfektion des Vakzinevirus als Grundlage für die klinische Pockendesinfektion.

Die Medizinische Welt 17, 76 (1966)

4. Bösenberger, H.:

Sterilisation und Desinfektion - Begriffsdefinitionen und Anregungen.

Goldschmidt 4/70 Nr. 13

5. Committee on Formaldehyde Disinfection:

Disinfection of Fabrics with Gaseous Formaldehyde.

J. Hyg. (Cambr.) 56, 488 - 515 (1958)

6. Deutsche Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie:

Richtlinien für die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel.

3. ergänzte Auflage

Gustav Fischer Verlag, Stuttgart 1972

7. Deutsche Veterinärmedizinische Gesellschaft (DVG):

Prüfungsrichtlinien der DVG, herausgegeben anlässlich des Symposiums der DVG über "Desinfektion und Prüfung von Desinfektionsmitteln" am 14.11.72 in Hannover

7a. Deutsches Zentralkomitee zur Bekämpfung der Tuberkulose:

Desinfektionsmaßnahmen bei Tuberkulose, Ausgabe Dez. 1972

8. Gildemeister, E., Hailer, E., Heuer, G.:
Das Verhalten des Vakzinevirus
gegenüber keimtötenden Stoffen.
Arch. Hyg. 103 (1930) S. 132-164
9. Grist, N.R. U.S.A.:
Diagnostische Methoden in der
klinischen Virologie.
Georg Thieme Verlag, Stuttgart 1969
S. 92
10. Großgebauer, K.:
Assessments of Virucidal Ability
of Chemical Disinfectants.
Applied Microbiology, 15, 2, 316-318,
1967
11. Großgebauer, K.:
Lehrsätze zur chemischen Desinfektion.
Materia Medica Nordmark 23, 5 - 6,
S. 142 - 155, 1971
12. Großgebauer, K., Spicher, G., Peters, J., Kuwert, E.,
Pohle, H.D., Werner, H.:
Experiments on Terminal Disinfection
by Formaldehyd Vapour in the Case of
Smallpox.
J. Clin. Microbiol., in Druck
13. Großgebauer, K.:
Virus Disinfection.
Disinfection.
Ed. Benarde, M.A., Marcel Dekker
Inc., New York 1970,
p. 103 - 146
14. Großgebauer, K.:
Zur Desinfektion der mit Pocken-
viren kontaminierten Hand.
Gesundheitswesen und Desinfektion 59,
1 (1967)
15. Heicken, K.:
Desinfektion bei Pocken.
Abhandlungen aus dem Bundesgesund-
heitsamt, Heft 7, Springer Verlag
1963, S. 122

16. Hudemann, H., Weuffen, .:
Leitfaden der Desinfektions-
praxis.
Joh. Ambrosius Barth - Verlag,
Leipzig 1973, S. 196 - 197 u.
S. 202 - 203
17. 1. Internationales Colloquium über die Wertbestimmung
von Desinfektionsmitteln in Europa.
Arch. Hyg. 6/71, S. 3 - 31
- 17a. Kanz, E.:
Aseptik in der Chirurgie, Desin-
fektion und Sterilisation.
Urban u. Schwarzenberg, München,
Berlin, Wien 1971, S. 39
18. Kelsey, J.C.:
Disinfectants and Smallpox
The Lancet 1975
S. 337
19. Klein, J.:
Pockenüberwachungsstrategie -
Fallfindungs- und Bekämpfungs-
aktionen.
Bundesgesundheitsblatt 75/6,
S. 94
20. Kornfeld, F.:
Das System der nicht behördlich
vorgeschriebenen Desinfektions-
maßnahmen.
Alimenta, 6/70, 9, S. 239 - 244
21. Liste (IV.) der nach den "Richtlinien für die Prüfung
chemischer Desinfektionsmittel" geprüften und von der
Deutschen Gesellschaft für Hygiene und Mikrobiologie
als wirksam befundenen Desinfektionsmittel.
Stand 1. Januar 1974
22. Liste der vom Bundesgesundheitsamt geprüften und aner-
kannten Desinfektionsmittel und -verfahren.
Veröffentlichungen des Bundesge-
sundheitsamtes Nr. 21 vom
22. 10. 71

23. ...

Wendepunkt in der Pockenbekämpfung.

Bundesgesundheitsblatt 75/6, S. 93

24. McCulloch, ...

Disinfection and Sterilisation.

Ed. Reddish, G.F.

Lea and Feblinger, Philadelphia 1957

25. Merkblatt Nr. 18, herausgegeben vom Bundesgesundheitsamt (Ausgabe April 1972):

Pocken, Verhütung und Bekämpfung, Ratschläge an Ärzte.

Deutsches Ärzteblatt 16, 1972, S. 973 - 978

26. Mitra, A.C., Sarkar, J.K., Mukherjee, M.K.:

Virus Content of Smallpox Scabs.

Bull. Wld. Hlth. Org. 1974, 51, S. 106 - 107

27. Pockenalarmplan.

Amtliche Mitteilung im Amtsblatt von Berlin, Teil 1, 1970, S. 398

28. Pöhn, H.-P., Heicken, K.:

Prüfung von Desinfektionsmitteln auf Viruzidie gegenüber Virusarten der Pocken-Vaccine-Gruppe.

Zbl. Bakt., I. Abt. Orig. 202, 172 - 180 (1967)

29. Reber, H.:

Stellungnahme zu Diskussionsbemerkungen "Definition der Desinfektion".

Zbl. Bakt. Hyg, I. Abt. Orig. B 157, 53 - 67 (1973)

30. Reed, L.J. u. Muench, H.:

A Simple Method for Estimating fifty per cent End Points.

Amer. J. Hyg. 27, 493 (1938)

31. Schmidt, B., Gromgebauer, K.:

Die Prüfung chemischer Desinfektionsmittel auf Viruzidie.

Gesundheitswesen und Desinfektion
1963, S. 32 - 47

32. Schmidt, B., Gromgebauer, K.:

Fachärztliches Gutachten über die Eignung des Präparates "Spitacid" zur Händedesinfektion bei Pockenerkrankungen. Mai 1969

33. Schumacher, W.:

Die Pockensituation aus der Sicht der Bundesrepublik Deutschland.

Bundesgesundheitsblatt 75/6, S. 98

34. Schumacher, W.:

Pockenausbruch in London 1973.

Bundesgesundheitsblatt 75/6, S. 100

35. Spicher, G.:

Grundlagen der Desinfektion und der Desinfektionsmittelprüfung. Ein Beitrag zu speziellen Problemen.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. B 157,
S. 392 - 405 (1973)

36. Spicher, G.:

Mikrobiologische Sterilisationsindikatoren. Allgemeines und Grundsätzliches.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 224,
S. 527 - 553 (1973)

37. Spicher, G., Timm, H.:

Untersuchungen über die Resistenz von Tollwutvirus fixe gegenüber den wichtigsten Wirkstoffen von Desinfektionsmitteln.

Zbl. Bakt. Hyg., I. Abt. Orig. A 222,
S. 154 - 174 (1973)

38. Thurn, H.:

Der indische Unionsstaat Bihar - ein letzter Pockenherd.

Bundesgesundheitsblatt 75/6, S. 95

Danksagung

Mein Dank gilt Herrn Professor Dr. med. K. Großgebauer für die Überlassung des Themas sowie für die wertvolle Unterstützung und Beratung bei der Durchführung der Experimente und der Diskussion der Ergebnisse.

Weiterhin gilt mein Dank der LTA Fräulein Elisabeth Bauer für ihre freundliche Hilfe.

Lebenslauf

Am 31. Juli 1947 wurde ich als Sohn des Kaufmanns Hans-Otto Schümann und seiner Frau Hildegard in Hamburg geboren. Am 1. April 1954 erfolgte die Einschulung in der Rugenbarg-Schule in Hamburg-Osdorf. Am 1. April 1959 wechselte ich auf die Schlee-Schule, neusprachliches Gymnasium für Jungen, besuchte hier den altsprachlichen Zweig und machte Ostern 1968 das Abitur.

Am 15. April 1968 immatrikulierte ich mich an der medizinischen Fakultät der Albert-Ludwig-Universität in Freiburg/Br. und bestand dort am 14. März 1969 die naturwissenschaftliche Vorprüfung und am 25. März 1971 die Ärztliche Vorprüfung. Im Herbst 1972 erfolgte die Verlegung des Wohnsitzes nach Berlin und die Fortsetzung des Medizinstudiums; Erlangung des deutschen Staatsexamens am 10. April 1975 und des amerikanischen Staatsexamens am 23. 7. 1975 an der Freien Universität Berlin.

